Idegsejtek biofizikai paramétereinek meghatározására szolgáló kísérleti módszerek tervezése számítógépes szimulációk és valószínűségi modellek segítségével

BSc. szakdolgozat

Terbe Dániel
Fizika BSc., fizikus szakirány

Témavezető:
Káli Szabolcs
MTA Kísérleti Orvostudományi Kutatóintézet

Egyetemi konzulens:
Czirók András
ELTE TTK Biológiai Fizika Tanszék

Eötvös Loránd Tudományegyetem, TTK Fizika szak

Budapest, 2017

Tartalomjegyzék

1. Bevezetés **5**

2. Idegsejtek modellezése **7**
2.1. Biológiai alapok . . . 7
2.2. Elektromos tulajdonságok . . . 7
2.3. Egykompartmentumos modell . . . 10
2.4. Térbelileg kiterjedt modellek . . . 10
2.5. *NEURON* idegsejt szimulációs program . . . 11

3. Módszerek és megvalósítás **14**
3.1. Eloszlásbecslés Bayesiánus formalizmussal . . . 14
3.2. Zajmodellek . . . 15
3.2.1. Autokorrelációs függvény . . . 16
3.2.2. Kovariancia mátrix . . . 16
3.2.3. Fehér független zaj . . . 18
3.2.4. Exponenciálisan korreláló színes zaj . . . 18
3.3. Likelihood függvény . . . 20
3.3.1. Likelihood értelmezése . . . 21
3.3.2. Normál eloszlásból likelihood . . . 21
3.3.3. Likelihood megkonstruálása numerikusan . . . 22
3.4. Technikai megvalósítás . . . 25
3.5. Összegzés . . . 27

4. Eredmények **27**
4.1. Egykompartmentumos modell . . . 28
4.1.1. Fehér zaj . . . 29
4.1.2. Színes zaj . . . 29
4.2. Térbelileg kiterjedt modell: *Stick and Ball* . . . 33
4.2.1. Fehér zaj . . . 33
4.2.2. Színes zaj . . . 34
4.3. Kísérleti protokollok információtartalma . . . 36
4.4. Inferencia valódi adatsoron . . . 38

5. Következtetések **42**

Ábrák jegyzéke

2.2.1.Axiális ellenállás 8
2.3.1.Egykompartmentumos modell 10
2.4.1.Többkompartmentumos modell 12
2.5.1.Kísérletből származó morfológia 12
2.5.2.Idegsejt modell 13
2.5.3.Többkompartmentumos modellezés 13
3.2.1.Zaj baseline 17
3.2.2.Zaj autokorrelációja 17
3.2.3.Fehér zaj 19
3.2.4.Színes zaj 20
3.3.1.Marginális eloszlás és együttes eloszlás típikus ábrái 24
3.3.2.Együttes és marginális eloszlásokat összefoglaló ábratípus 25
3.4.1.Egy futtatás példakódja 26
3.5.1.Módszer sémája 27
4.1.1.Egykompartmentumos modell szemléltetése 28
4.1.2.Egy kompartmentum, egy paraméter, fehér zaj eredmény és ábratípus magyarázat 30
4.1.3.Egykompartmentumos modell fehér zaj együttes poszterior eloszlása . 31
4.1.4.Egy kompartmentum két paraméter, fehér zaj eredmény 31
4.1.5.Egykompartmentumos modell, színes zaj, együttes poszterior eloszlása 32
4.1.6.Egy kompartmentum, két paraméter, színes zaj eredmények 32
4.2.1.Többkompartmentumos modell szemléltetése 33
4.2.2.*Stick and ball*, két paraméter, fehér zaj együttes eloszlásai 34
4.2.3.*Stick and ball*, két paraméter, fehér zaj eredmény 34
4.2.4.*Stick and ball*, két paraméter, színes zaj együttes eloszlásai 35
4.2.5.*Stick and ball*, két paraméter, színes zaj eredmény 35
4.3.1.Különböző protokollok és információtartalmuk 37
4.4.1.Valós passzív idegsejt áramimpulzusokra adott feszültségválasza . . . 38
4.4.2.Illesztés az autokorrelációs adatokra 39
4.4.3.Valós kísérleti adatsoron végzett inferencia eredményei 40
4.4.4.Valós kísérleti adatsoron végzett inferencia összefoglaló ábrája 41

Kivonat

Az idegsejtek viselkedését számos paraméter határozza meg, melyek közül kísérletileg nem mérhető mind közvetlenül. Az ilyen típusú paraméterekre a kísérletből csupán közvetett módon következtethetünk. Ezért modelleket alkalmazunk bizonyos paraméterek kísérleti eredményekből való meghatározására.

A munkánk célja az, hogy valószínűségszámítás módszereivel, illetve a modellek szimulációjával meghatározzuk, hogy adott kísérleti összeállítások segítségével mennyire pontosan vagyunk képesek a paraméterek becslésére. A Bayesiánus valószínűségszámítás alapvető módszereit és a modellek szimulációs eredményeit felhasználva kiszámíthatjuk, hogy adott kísérleti eredményeket milyen paraméterek mekkora valószínűséggel adják.

Ezeket a módszereket először egyszerű esetekben teszteltük. Megállapítottuk, hogy egy egykompartmentumos passzív idegsejt membránparamétereit fehér zaj jelenlétében becsülni tudjuk az idegsejtmodell áramlépcső bemenetre adott válasza alapján. Kezdetben az egykompartmentumos modell membrán kapacitását választottuk valószínűségi változónak. Majd ugyanezt azzal kiegészítve, hogy a passzív konduktanciát is változónak vettük. A következő lépésben térbelileg kiterjedt modellek axiális ellenállását és passzív membrán konduktanciáját választottuk a becsülendő paramétereknek. Majd ezeket az eseteket általánosítottuk exponenciálisan korreláló színes zajra, mert ez egy realisztikusabb modellje a kísérleti zajoknak. Végül vizsgáltuk, hogy a különböző kísérleti protokollok használata hogyan befolyásolja az egyes paraméterek becslését, ezzel alapozva a végső célt: a legnagyobb információtartalmú protokoll ajánlása a kísérletezőknek.

Végeredményként arra jutottunk, hogy a becslés pontossága függ a becsülni kívánt paraméterek számától és azok összeállításától, valamint az egyes kísérleti összeállításoktól is. Tehát bizonyos paramétereket együtt mérve az egyes paraméterek értékéről kevesebb információt szerzünk, mint amennyit esetleges más összeállításokból kinyerhetnénk, valamint egyfajta idegsejt stimulálás esetén az egyik paramétert pontosabb becsülni, míg másik esetén a másikat. A gyakorlatban fontos speciális esetként megfigyeltük, hogy a kiterjedt modell dendritre jellemző paraméterei (pl. az axiális ellenállás) kevésbé pontosan mérhetők tisztán a sejttesten végzett mérések alapján.

Összességében megállapíthatjuk, hogy az általunk kidolgozott paraméterbecslési módszerek alkalmasak arra, hogy a kísérleti adatok alapján megbecsüljük ne csak önmagában a legvalószínűbb paraméterértékeket, hanem maga az inferencia várható pontosságát és akár a paraméterek korrelációját is.

Legfőbb feladatunk, hogy sok különböző paraméterösszeállítást használva szintetikus adatokat állítunk elő, melyekre aztán alkalmazzuk a paraméterbecslést. Ennek segítségével képesek leszünk előre megmondani, hogy az adott kísérletet elvégezve mennyire pontos eredményt kapnánk, mekkora lenne a mérés információtartalma.

1. Bevezetés

Elektrofiziológiai kísérletek során, az idegsejtet jellemző bizonyos paramétereket nehézkesen, csak közvetett módon lehet mérni. Ezért az a bevett módszer, hogy egy idegsejt bizonyos áramstimulusra adott válaszát kísérleti úton rögzítjük és azt replikálni próbáljuk a sejtről készített kompartmentumos modell ugyanazon (programozott) áramimpulzusra adott szimulációs válaszával. Kezdetben az intuíció erejével kézzel állítgatták a paramétereket. Ma is vannak erre kifejlesztett kreatív technikák [6]. A módszer azon alapszik, hogy adott paraméterbeállítással kiértékeljük a modell eredményét és összehasonlítjuk annak kísérleti adatokkal vett hasonlóságát. Ezt addig ismételgetjük, míg elfogadható hasonlóságot nem mutat a kettő. Viszont ahogy a számítógépek egyre hatékonyabbá és gyorsabbá váltak, lehetőség nyílott a fentebbi folyamat automatizálására, ahol már a modellünk adott paraméterek melletti teljesítményét, *"jóságát"* egy algoritmus értékeli ki a hibafüggvény segítségével. Utóbbi hasonlítja össze a modell – adott paraméterek melletti – eredményét a kísérleti adatokkal és egy számértékkel jellemzi az eltérésüket. Az illesztési procedúra eredménye egy megoldás a keresett paraméterekre, kiegészítve az így kapott modell hibájával. Ezeknek a megvalósítására rengeteg módszer van és széles körben elterjedtek, sok cikk foglalkozik velük [5][10][11]. Külön megemlíteném az – ugyancsak Káli Szabolcs vezetésével megalkotott – *Optimizer*[8] nevű idegsejt paraméter optimalizációs szoftvert, amely több algoritmust használva és kombinálva kiemelkedő teljesítmény nyújt a területén, már csak a felhasználóbarát grafikus kezelőfelülete miatt is.

Ennek a megközelítésnek viszont sok hátulütője lehet, ugyanis a zaj miatt – melyet az előbb tárgyalt paraméteroptimalizációs eljárások nem vesznek figyelembe – a sejtválasz ugyanarra az áramstimulusra kísérletről-kísérletre változhat. Ezen kívül nem ad elegendő betekintést a módszer arra sem, hogy mennyire pontos a paraméterek becslése, illetve milyen kapcsolat lehet közöttük.

Olyan is előfordulhat, hogy a valóditól teljesen eltérő paraméterértékeket tudunk becsülni a kísérleti adatokból. Például az elektromosan csatolt neurális hálózatoknál is ez a helyzet[1][9], mivel a csatoltság kihatással van a sejtet leíró passzív paraméterekre és megváltoztatja azok tényleges értékét. Ennek következtében az a megoldás, miszerint megkeressük a paramétereket melyekkel a sejtmodellünk tökéletesen visszaadja a kísérleti eredményeket, félrevezető lehet. De ez már nem mondható az optimalizációs módszer hibájának, ügyelni kell, hogy ne legyenek csatoltak a hálózatok, ha tényleges paramétereket akarunk mérni.

A zajból és a becslés pontosságának bizonytalanságából fakadó probléma orvoslására egy valószínűségi modellt hoztunk létre a Bayesiánus formalizmust használva, ami eredményül egy poszterior eloszlást társít a keresett paraméterekhez (mint valószínűségi változókhoz), az adott kísérleti adatok függvényében. Ezzel ellenben az optimalizációs algoritmusok csupán egyetlen értéket adnak egy hibaértékkel társítva

megoldásként. Ez a módszer lehetőséget ad arra, hogy a kísérletből származó bizonytalanságot is figyelembe tudjuk venni, ami egy kiterjedtebb, részletesebb jellemzése az egész problémakörnek. Több különböző területen már sikeresen alkalmazták ezt a megközelítést, például a szinaptikus paraméterek megbecslésére[3]. A cikkből kiderül, hogy sikeresen alkalmazták a módszert arra – ami számunkra igen releváns –, hogy a kísérleti protokollt javítsák a nagyobb információtartalmú paraméterbecslés érdekében. Emellett kiderült, hogy a különböző szélességű eloszlások jellemzik a különböző szinaptikus dinamikákat, így ennek segítségével azok csoportosíthatók.

Tehát elektrofiziológiai mérések idegsejtmodellekkel való kiegészítése nem újkeletű, de a statisztikai vizsgálódás – szemben a paraméter optimalizációs algoritmusokkal – kevésbé elterjedt, az idegtudomány területén eddig még nem is nagyon alkalmazták. Tehát a mi általunk tárgyalt megközelítés célja nem csupán az, hogy találjunk egy olyan paraméterkombinációt a modellhez, ami legjobban illeszkedik a kísérleti adatsorra, hanem hogy valamilyen módon jellemezzük az adott kísérleti összeállítás információtartalmát. Ez azért fontos mivel a paraméterek különböző megválasztásával azok becslése is különböző hatékonysággal történik, mert köztük bonyolult összefüggések, korrelációk lehetnek, így az eredmény pontosságának szempontjából nem mindegy milyen beállításokkal végezzük a kísérletet. Még mielőtt az adott kísérleti protokollal elvégeznék a mérést, mi szeretnénk megmondani – szintetikus, *"kvázi-kísérleti"* adatokat előállítva és arra inferenciát végezve –, hogy az mennyi információt képes szolgáltatni a keresett biofizikai paraméterekről. Ez egy nagyon hasznos, sok helyen felhasználható, általános eredmény lenne a kísérletek megtervezése szempontjából. Ráadásul az elektrofiziológiai kísérletek költségesek és véges idő áll rendelkezésre a sejten végzett mérésekhez, ezért fontos lenne hatékony méréseket kivitelezni, például megmondani, hogy akkor lesz a legeredményesebb a kísérlet, ha A típusú stimulussal mérnek x darabot és B típusú stimulussal mérnek y darabot stb...

A munkánk során egyszerű statisztikai modellt állítunk fel, amit különböző komplexitású modellek passzív paramétereinek eloszlásának becslésére alkalmazunk, különböző zajmodellek mellett. Végeredményként a paraméterekre mint valószínűségi változókra egy eloszlást fogunk kapni, ami képes jellemezni a mérés bizonytalanságát. Végül arra jutunk, hogy a módszer jól működik és kiterjeszthető a fő problémára: adott kísérleti protokoll információtartalmának előrejelzésére, valamint el is kezdjük néhány protokoll vizsgálatát.

A következőkben röviden áttekintjük, hogy hogyan modellezzük az idegsejteket és lesz szó a *NEURON* idegsejt modellező programról is, amit a munkánk során alkalmaztunk. Ezután rátérünk a konkrétumokra: fentebb leírt feladat megvalósítására, eredményekre.

2. Idegsejtek modellezése

2.1. Biológiai alapok

Az idegsejtek magas ion és molekulatartalmú közegben működnek. Legtöbbször a neuron belsejében többlet negatív töltés van, ez felhalmozódik a sejtmembrán belső felületén. A külső felületére pedig az elektromos erők hatására ugyanakkora sűrűségű csak ellenkező előjelű töltés épül fel. A alábbiakban az idegsejtek alapvető biológiai fogalmait tárgyaljuk:

sejtmembrán A sejtmembrán egy 3-4 nm vastag kettős lipid réteg, ami lényegében átjárhatatlan a legtöbb töltött molekulára nézve. A sejtmembrán ezen tulajdonsága okozza, hogy tulajdonképpen egy kondenzátorként viselkedik, mivel elkülöníti a belsejében levő és a külső töltéseket.

ioncsatornák Számos típusú feszültségfüggő ion-áteresztő csatorna van beleágyazva a sejtmembránba változó sűrűséggel. Ezek bizonyos ionokat átengednek, másokat pedig nem. Részletesebben ezekre nem térünk ki, mert mi csak passzív modellekkel foglalkoztunk vizsgálataink során, aminek az a lényege, hogy a feszültségfüggő csatornákat blokkoljuk és az idegsejt (passzív) viselkedését így vizsgáljuk.

ion pumpák Az ion-pumpák tartják fenn hosszútávon a koncentrációgradienst a membrán két oldala között, energiát használva fel.

membránpotenciál Konvenció szerint az extracelluláris potenciált rögzítjük nullára. Ennek következtében nyugalomban az idegsejt belseje negatív potenciálú. Az idegsejt akkor van nyugalomban ha a kiáramló és beáramló töltések kioltják egymást. A potenciál úgy változtatható meg, ha kinyitunk vagy bezárunk egy ion-csatornát, illetve ha kísérletileg áramot injektálunk a sejtbe. Mi esetünkben az utóbbit használtuk ki. A neuron feszültsége átlagos körülmények között $-90mV$ és $+50mV$ nagyságrendben mozog, ez teszi lehetővé, hogy az ionok a termális energiát kihasználva átlépjék a membránt. Más nagyságrendet választva nem funkcionálnának az idegsejtek, tehát nem véletlen, hogy a természetes szelekció pont erre az értékre állította be.

A membránpotenciál fontos fogalom az idegsejt leírására, mert annak épp az áramimpulzusra adott feszültségválaszát vizsgáljuk, amiből később következtetéseket vonhatunk le a modell paramétereire.

2.2. Elektromos tulajdonságok

Ebben az alfejezetben összefoglaljuk az idegsejtek alapvető elektromos tulajdonságainak a matematikai leírását.

axiális ellenállás A kiterjedt idegsejt membránpotenciálja térben általában nem homogén. Ez ion-áramot indít meg a sejt belsejében, ami igyekszik ezt a különbséget kiegyenlíteni. A sejt intracelluláris közege ellenállásként funkcionál erre az áramra nézve (ezért is szokták még intracelluláris ellenállásnak nevezni). Értéke annál nagyobb minél hosszabb és vékonyabb a sejttest (axonok és dendritek esetén például). Két pont között átfolyt áram nagysága könnyen megadható ennek a mennyiségnek és az Ohm törvény segítségével:

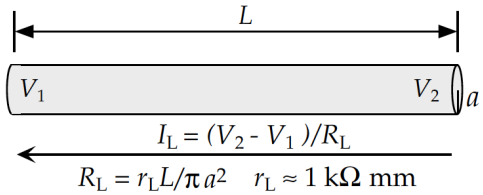
$$I_L = \frac{\Delta U}{R_L} \tag{2.2.1}$$

ahol ΔU a két pont közötti feszültségkülönbség és R_L pedig a szakasz ellenállása. R_L arányos a szakasz hosszával és fordítottan arányos a keresztmetszettel. Egy hengeres kábelmodell esetén felírható a következőképpen:

$$R_L = \frac{R_a L}{\pi a^2} \tag{2.2.2}$$

ahol $R_a\,[\Omega \cdot cm]$ a sejtet jellemző axiális ellenállás (vagy más néven intracelluláris ellenállás, az itteni ábrákon r_L jelöléssel), a pedig a keresztmetszet sugara. A szemléltetés megtalálható a 2.2.1-ábrán.

Munkánk során a sejtmodell ezen paraméterét is sokszor becsültük, mivel ez az érték egy jellemzője az idegsejt passzív viselkedésének: a beinjektált áram milyen hatékonyan oszlik szét a sejtben.



2.2.1. ábra. Az axiális ellenállás szemléltetése egy L hosszúságú kábelszakasz esetén. (Az ábrán $r_L = R_a$ jelölést használunk.) *Forrás:*[4]

membrán kapacitás Fentebb szó volt arról, hogy a membrán úgy viselkedik mint egy kondenzátor. Ebben az esetben az azon felhalmozódó töltést (Q) a következőképp számolhatjuk ki:

$$Q = C_m V \tag{2.2.3}$$

A kapacitás (C_m) azt mondja meg, hogy adott feszültség mellett mennyi töltés halmozódik fel a kondenzátor fegyverzetein, azaz jelen esetben a sejtmembránon. A kapacitás arányos a felülettel, ezért érdemes a membrán tulajdonságait jobban jellemző, felületfüggetlen mennyiséget bevezetni, a specifikus membrán kapacitás:

$$c_m = \frac{C_m}{A_m} \tag{2.2.4}$$

ahol A_m a membrán felülete. Ez az érték tipikusan 1 $\left[\frac{\mu F}{cm^2}\right]$ nagyságrendbe esik. Ha idő szerint lederiváljuk a 2.2.3 egyenlet mindkét oldalát, akkor megkapjuk a membránpotenciál megváltozását adott árambemenetre:

$$C_m \frac{dV}{dt} = \frac{dQ}{dt} \tag{2.2.5}$$

$$\frac{dQ}{dt} = I \tag{2.2.6}$$

membrán ellenállás Ahhoz is áram szükséges, hogy a membránpotenciált egy nem egyensúlyi szinten tartsuk. De ezt az áramot már a membrán ellenállás (R_m) határozza meg a kapacitás helyett. Ugyanis Ohm-törvénye értelmében az I_e befecskendezett áram eltolja a membrán potenciált egy ΔV értékkel:

$$\Delta V = R_m I_e \tag{2.2.7}$$

Ez a képlet csak kis I_e áramok és ΔV feszültségek esetén érvényes, ha aktív idegsejtről beszélünk, mivel a membrán ellenállás ekkor a feszültség függvénye. Passzív esetben, amikor a membrán ellenállás nem feszültségfüggő, a fenti összefüggés általánosan igaz. A membrán ellenállás nem más, mint a membrán konduktancia (áteresztőképesség) reciproka, ez pedig hasonlóan a membrán kapacitáshoz arányos a membrán felületével. A passzív membrán konduktancia tehát így írható fel:

$$g_{pas} = \frac{1}{R_m A} = \frac{1}{r_m} \tag{2.2.8}$$

amelynek tipikus értéke $g_{pas} = 0.0001 \left[\frac{\mu S}{cm^2}\right]$ körül mozog.

membrán időállandó Ha a membránkapacitást és membránellenállást összeszorozzuk akkor egy idő dimenziójú értéket kapunk. Ezt nevezzük a membrán idő állandónak, ami megadja a neurális folyamatok tipikus időskáláját:

$$\tau_m = C_m R_m \approx (10 - 100)\,[ms] \tag{2.2.9}$$

membránáram Ha a membrán összes csatornáján átáramló áramot leosztjuk a membrán felületével, akkor megkapjuk az egységnyi felületre eső membrán áramot (i_m). Passzív idegsejt esetében ez a nem feszültségfüggő (passzív) ion-csatornákból származik. Ezt a jelenséget a membrán passzív konduktanciájával jellemezzük és az ebből fakadó egységnyi felületre eső membránáramot a következőképpen írhatjuk le:

$$i_m = g_{pas}\,(V - E_{pas}) \tag{2.2.10}$$

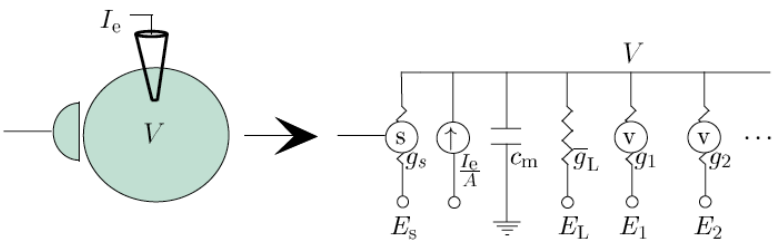
ahol g_{pas} a membrán passzív áteresztőképessége (konduktanciája) és E_{pas} pedig a megfordítási potenciálja, ami passzív esetben épp az idegsejt nyugalmi potenciálja: ($E_{pas} = V_m$). Ezt az értéket meghaladva az ionok ellenkező irányba kezdenek folyni.

2.3. Egykompartmentumos modell

Egyetlen paraméterrel írjuk le a membránpotenciált, azaz azt tételezzük fel hogy a membrán mentén állandó a potenciálkülönbség. Ez a közelítés egy szómára (egykompartentumos modell) teljesen helytálló, mert könnyen szétterjed benne az áramimpulzus. Tulajdonképpen arról van szó, hogy pontszerűnek tételezzük fel a szómát. A passzív egykompartmentumos modell leírásához a 2.2.5 és a 2.2.10 egyenleteket kell összerakni:

$$c_m \frac{dV}{dt} = -g_{pas}\,(V - E_{pas}) + \frac{I_e}{A} \tag{2.3.1}$$

ahol I_e a kísérleti úton sejtbe juttatott áram (stimulus). A 2.3.1 ábrán az egykompartmentumos modellek egy általános kapcsolási rajza látható. Vizsgálataink során ennek a modellnek mind a c_m és a g_{pas} (gyakran g_L-lel jelölik, mint például az itt fellelhető ábrákon is) paramétereinek az inferenciájával foglalkoztunk.



2.3.1. ábra. Egy általános egykompartmentumos modell, melyen a ion-csatornákból származó és az elektróda áram mellett még egy szinaptikus kapcsolat is van. *Forrás:*[4]

2.4. Térbelileg kiterjedt modellek

A térbelileg kiterjedt modelleknél már nem tehetjük fel, hogy a membrán mentén a potenciál konstans, térbeli függést is feltételeznünk kell, melyet a kábelegyenlet ír le. Több elemből építjük fel az idegsejtet, melynek az egyes kompartmentumjaiban homogén a potenciál. Minél több részre osztjuk a sejtet, annál részletesebben tudjuk leírni a valós viselkedését. Ezt a folyamatot, vagyis a modellezés különböző szintjeit mutatja be szemléletesen a 2.5.3 ábra. Ez matematikailag összekapcsolt egykompartmentumos modellekkel írható le a következő módon (passzív idegsejt esetén):

$$c_m \frac{dV_\mu}{dt} = -g_{pas}\left(V_\mu - E_{pas}\right) + \frac{I_e^\mu}{A_\mu} + g_{\mu,\mu+1}\left(V_{\mu+1} - V_\mu\right) + g_{\mu,\mu-1}\left(V_{\mu-1} - V_\mu\right) \quad (2.4.1)$$

ahol I_e^μ az adott μ-edik kompartmentumba befecskendezett áram, V_μ a μ-edik kompartmentum membránpotenciálja, A_μ a μ-edik kompartmentum felülete. Ennek megfelelően $V_{\mu+1}$ és $V_{\mu-1}$ a jelenlegi komparmentumhoz csatlakozó másik kompartmentumok feszültségei. $g_{\mu,\mu+1}$ és $g_{\mu,\mu-1}$ a csatolási tényező, áteresztőképesség a kompartmentumok között, amelyre felírható a következő összefüggés:

$$g_{\mu,\mu+1} = \frac{a}{2R_a^{\mu,\mu+1}L^2} \quad (2.4.2)$$

ahol R_a a 2.2-paragrafusban említett axiális ellenállás, a a kábel keresztmetszetének sugara és L a kábel középpontjait összekötő szakasz hossza, ami ugyanakkora kábeldarabok esetén maga a kábelszakaszok hossza (a képlet erre az esetre érvényes). Inferencia során ezt a paramétert is becsültük, a kompartmentumok között állandónak tekintve ezt az értéket:

$$R_a^{\mu,\mu-1} = R_a^{\mu,\mu+1} = ... = R_a$$

Egy ilyen modellnek az általános kapcsolási rajza a 2.4.1 ábrán látható.

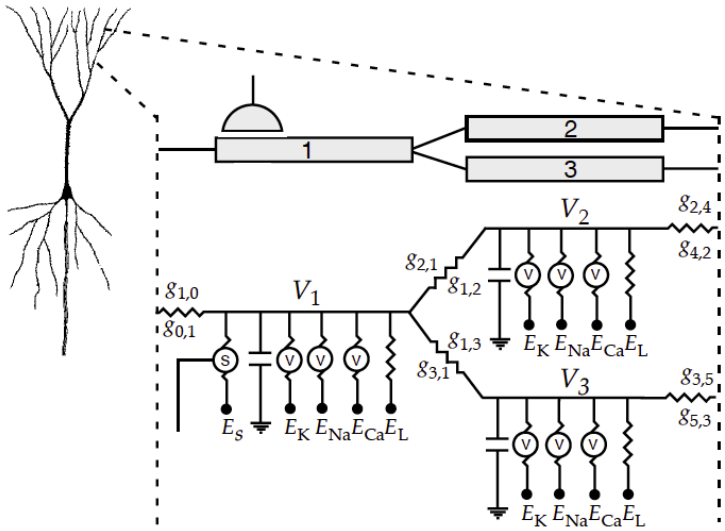
Mi egy úgynevezett *Ball and Stick* modellt építettünk vizsgálataink során, ami egy szómához kapcsolódó dendrit esetét reprezentálja. Ezen kívül használtunk egy kísérletből származó, bonyolult térbelileg kiterjedt morfológiát is.

2.5. *NEURON* idegsejt szimulációs program

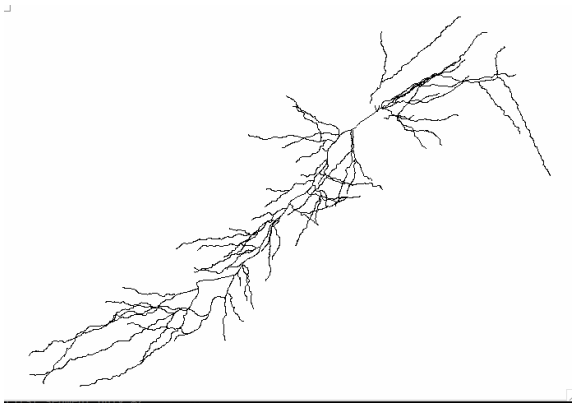
A munkánk során a *Python* programozási nyelvet és környezetet használtunk. Az idegsejtek modellezésére, valamint a fentebb tárgyalt egyenletek numerikus megoldására pedig a *NEURON* programot alkalmaztuk. Szerencsére ez betölthető a *Python* környezetébe és így kommunikálni képes vele. Sok különböző paraméterkombinációval végzett szimuláció elvégzésénél ez nagy hasznunkra vált.

A *NEURON* egy szimulációs környezet idegsejtek és komplex hálózatok modellezésére. Kényelmes eszközt szolgáltat modellek építéséhez, kezeléséhez és használatához. Kifejezetten jól alkalmazható esetekhez, melyek szorosan kapcsolódnak kísérleti adatokhoz. A *NEURON "motorja"* különleges algoritmusokat használ annak érdekében, hogy az imént tárgyalt neurális tulajdonságokat leíró egyenleteket, minél hatékonyabban oldja meg.

Munkánk során mi két modellt építettünk, egy egykompartmentumos – ami egy neuronból áll – és egy térbelileg kiterjedt úgynevezett *Ball and Stick* modellt – ami egy neuronból és egy hozzá csatlakozó dendritből áll. Ezen kívül egy valós kísérletből származó anatómiailag részletes modellre is alkalmaztuk megoldásainkat, melynek *NEURON*-ba töltött rekonstrukciója látható a 2.5.1-ábrán.



2.4.1. ábra. Egy kiterjedt idegsejt kompartmentumos modelljének kapcsolási rajza. Három kompartmentum látható, az elsőhöz szinaptikus bemenet kapcsolódik. Egy kompartmentumon háromféle ion által keltett áram van jelölve a megfelelő megfordulási potenciálok révén – melyek feszültségfüggő ellenálláson keresztül kapcsolódnak –, illetve a *"leak"* áram. A membránt pedig a kondenzátor helyettesíti. *Forrás:*[4]

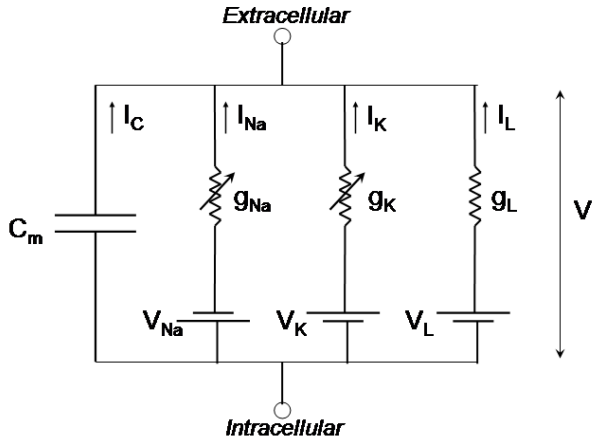


2.5.1. ábra. Egy valós idegsejt *NEURON* programba töltött modellje.

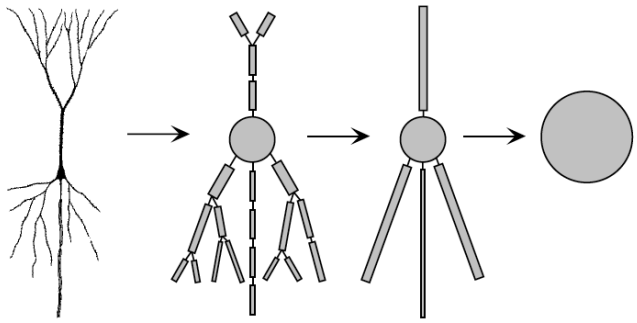
Az összes általunk használt modellt passzív idegsejti mechanizmus mellett vizsgáltuk. Ez azt jelenti, hogy az áramimpulzus hatására nem *"tüzel"* az idegsejt, csak passzívan folyik belsejében az áram. Kísérletileg ezt bonyolult módon csatorna blokkolókkal lehet elérni, *NEURON*-ban csupán beállítás kérdése.

Korábban láttuk, hogy hogyan is modellezünk egy biológiailag nagyon komplex idegsejtet: egyszerű elektronikából ismert hálózati elemekből összerakott modell nagyon jól visszaadja az empirikus megfigyeléseket. Ezek a vezetőképességen alapuló modellek az idegsejteknek a lehetséges legegyszerűbb biofizikai reprezentációi, melyekben az ion csatornákat ellenállásokkal, illetve a kettős lipid membránt pedig

egy kapacitással helyettesítik (egy ilyen látható a 2.5.2. ábrán). Illetve az idegsejtet részegységekre (kompartmentumokra) bontjuk, melyek egy csatolt differenciálegyenletrendszert szolgáltat. Az idegsejt ilyen jellegű modellezése, azaz kompartmentumos leírása látható a 2.5.3 ábrán. Analitikusan az idegsejt felosztásával tarthatunk a nullába, viszont numerikusan ez nem megoldható, véges kompartmentumokkal közelítünk.



2.5.2. ábra. Példa az idegsejt konduktancián alapuló kapcsolási modelljéről.
Forrás: http://www.scholarpedia.org/w/images/e/eb/Fig1.png



2.5.3. ábra. [4] Egy idegsejt különböző szintű kompartmentális modellezése. Jobbra haladva egyre inkább leegyszerűsítve írjuk le a sejtet.

3. Módszerek és megvalósítás

3.1. Eloszlásbecslés Bayesiánus formalizmussal

Célunk az idegsejt modellezés eszközeivel adott mérési eredmények alapján különböző paraméterek poszterior eloszlását meghatározni a kiválasztott sejttípuson belül, mivel ez sok lényeges információt hordozhat (paraméterek várható értéke, közöttük levő korreláció, becslés információtartalma...). Erre a problémakörre jól alkalmazható a Baysiánus inferencia módszere, amit az alábbiakban tárgyalunk.

valószínűségi változók A modell paramétereire úgy tekintünk, mint valószínűségi változókra (ξ), melyekhez eloszlásfüggvényt szeretnénk rendelni.

poszterior eloszlás Paraméterek poszterior eloszlását szeretnénk meghatározni adott kísérleti eredmények mellett. Elsődleges szempont tehát, hogy legyenek kísérleti eredményeink (D) (például a mi esetünkben passzív idegsejtek válasza áramimpulzus hatására). Valamint jellemezni kell valamilyen módon, hogy az adatok mennyire támasztják alá a modellünk adott paraméterek melletti helyességét ($\mathcal{L}_i(D|\xi)$). Ezen kívül hasznos, ha vannak előzetes ismereteink a becsülendő paraméterekről ($\Pi(\xi)$), így kizárva azokat az eseteket, amelyek biztosan nem következhetnek be (pl. negatív értékeket nem vehetnek fel bizonyos biofizikai paraméterek). Ezen összetevőkből egy poszterior eloszlás készíthető a következő módon:

$$P(\xi|D) = \frac{\mathcal{L}(D|\xi)\Pi(\xi)}{\int \mathcal{L}(D|\xi)\Pi(\xi)d\xi} \tag{3.1.1}$$

- $P(\xi|D)$: Ez a poszterior eloszlás, a keresett paraméterek valószínűségi eloszlása a mérési adatok és az előzetes ismeretek figyelembevétele után.
- $\mathcal{L}(D|\xi)$: Ez a likelihood eloszlás, azt jellemzi mennyire valószínű ezeknek az adatoknak a mérése, ha az adott paraméterbeállítással vett modellünket vesszük igaznak. A következő pontban ezt részletesen tárgyaljuk.
- $\Pi(\xi)$: Ez a prior eloszlás, előzetes ismereteink a paraméterekről. Úgy is felfoghatjuk, hogy ezt az eloszlást frissítjük az új adatok függvényében, így keletkezik a poszterior eloszlás. Új méréseket végezve ez a folyamat tovább iterálható.
- $\int \mathcal{L}(D|\xi)\Pi(\xi)d\xi$: Ez csupán a normálási faktor. Annak a következménye, hogy a valószínűségi eloszlásoknak normáltnak kell lenniük, így teljes tartományra vett integráljuknak pedig egynek.

marginalizálás Előfordulhat, hogy néhány paraméterre ki szeretnénk marginalizálni az eloszlást, ezzel vizsgálva az egyes paraméterekre vett eloszlásokat, illetve

a kiválasztott paraméterek együttes eloszlásait[1]. Tegyük fel, hogy ξ a célparamétereink, de a modellt kiterjesztettük további θ változóval, amit viszont ki szeretnénk marginalizálni. Marginalizálás után a poszterior alakja ugyancsak $P(\xi|D)$ lesz. A likelihood a kibővített paraméterekkel ilyen formában írható fel:

$$\mathcal{L}(D|\xi, \theta)$$

A megcélzott változókat egyszerűen kiintegrálva (a priorjaival együtt) visszakapjuk a 3.1.1-es egyenletben szereplő likelihood formát:

$$\mathcal{L}(D|\xi) = \int \mathcal{L}(D|\xi, \theta) P(\theta) d\theta \tag{3.1.2}$$

Az így kapott a likelihood függvényben már csak a ξ paraméterek szerepelnek változóként.

numerikus implementálás Numerikusan nem lehetséges egzaktul folytonos függvények kezelése. Mégis diszkrét eloszlások bevezetése helyett, *kvázi-folytonosnak* tekintjük őket és alkalmazzuk rá a numerikus eljárásokat, mintha folytonosak lennének.

3.2. Zajmodellek

A 3.1 fejezetben bevezettünk egy valószínűségi leírást, aminek fontos alkotóeleme a kísérleti adatsor D – mi esetünkben ez a passzív idegsejt áramimpulzusra adott feszültségválasza. Minden kísérletnél elkerülhetetlen tényező a zajok megjelenése. Tegyük fel, hogy van egy determinisztikus eredmény (D^*), amire kísérleti zajt rakva (z) kapjuk meg a valódi mért adatokat (D).

$$D = D^* + z$$

Fontos kiemelni, hogy ez tulajdonképpen a módszer alapfeltevése, miszerint a kísérletből kinyert adatsorunk úgy áll elő, mint egy determinisztikus függvényalak és az arra rakódott zaj. Ez látható szemléletesen a 3.2.3 és 3.2.4-ábrákon.

Ez azt jelenti, ha jól ismerjük a kísérletből fakadó zajt, akkor szintetikus *"kísérleti adatokat"* tudunk előállítani. Másrészt a zaj az inferencia lelke, mivel ez az egyik tényezője[2] a paraméterbecslés pontosságának, aminek a meghatározását tűztük ki célunkul. A likelihood függvénybe beleépítjük a zajmodellünket is, így paraméterbecslésnél – amikor összevetjük a modellünk eredményét a kísérleti adatokkal –

[1] Két paraméter együttes eloszlását még szépen meg lehet jeleníteni egy háromdimenziós ábrán, de efölött már nehézségekbe ütközünk.

[2] A másik a modell érzékenysége a paraméterek megváltoztatására. Ha a paramétereket kicsit megpertulbálva nagyon elromlik a modell eredményessége, akkor pontosabb a becslés mintha a fordított eset állna elő.

tulajdonképpen a zajt is figyelembe vesszük, ami nagy előnye az eljárásnak a paraméteroptimalizációs megoldásokkal szemben.

Fontosabb minél realisztikusabb zajmodellel dolgozni, mivel az előállított szintetikus adatokon futtatva a paraméterbecslési módszerünk képesek leszünk előre megjósolni az egyes mérési összeállítások várható információtartalmát, majd összehasonlítva az eredményeket, a leghatékonyabbat kiválasztani a kísérletezőknek.

Kétfajta zajmodellel dolgoztunk: egy kezdetleges független zajjal, a fehér zajjal, valamint egy realisztikusabb, önmagával exponenciálisan korreláló (színes)[3] zajjal. Ezekről lesz szó a következő pontokban, pontosabban arról, hogy hogyan is alkotjuk meg a zajmodellt, illetve mivel tudjuk jellemezni a zaj tulajdonságait.

3.2.1. Autokorrelációs függvény

A zajt jellemezhetjük autokorrelációs függvényével. Ez azt jellemzi, hogy a függvény mennyire hasonlít önmagára, azaz szemléletesen ha eltoljuk önmagán, mennyire fed át. Ha a mérőberendezéssel *"üresjárásban"* mérünk (alapvonal), akkor tulajdonképpen a zajt mérjük. Ha megismételjük elegendően sokszor ezt a mérést és az adatokon elvégezzük az autokorrelációs vizsgálatot, majd átlagoljuk a kapott eredményeket, akkor meghatároztuk a zaj autokorrelációs függvényének alakját. Ez azt jellemzi, hogy a zaj mennyire korrelál önmagával időben. A 3.2.1-ábrán látható sok *"alapvonal"* felvétel. A 3.2.2-ábrán pedig ezeknek az autokorrelációja, illetve pirossal azok átlaga. Az ábrán szépen látszódik – az átlagolt piros függvénymeneten – az autokorrelációs függvények legfőbb jellemzője, mégpedig az hogy mindig $t = 0$-ban van maximuma, hiszen ha a függvényt nem toljuk el, akkor tökéletesen korrelál (átfed) önmagával.

3.2.2. Kovariancia mátrix

Két valószínűségi változó kovarianciája:

$$cov(\xi, \chi) = E\left[(\xi - E[\xi])(\chi - E[\chi])\right] = E[\xi\chi] - E[\xi]\,E[\chi] \tag{3.2.1}$$

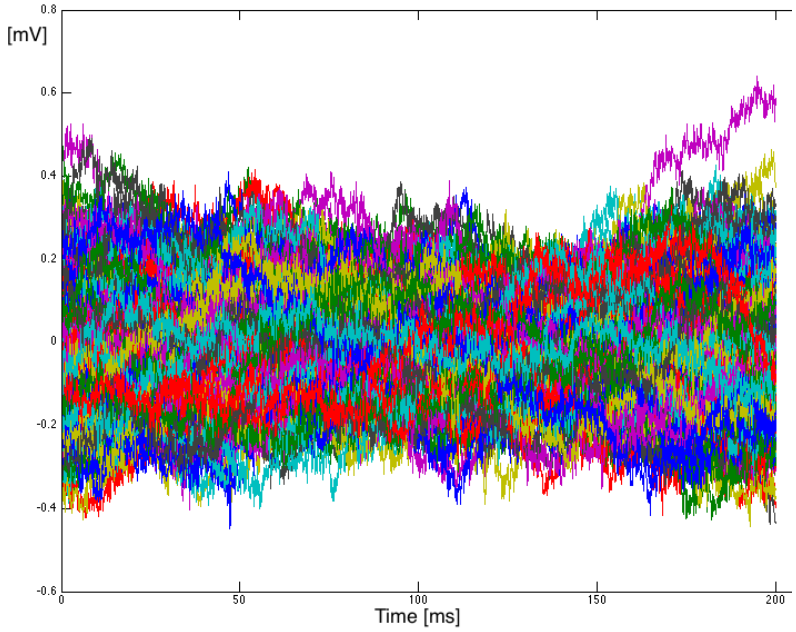
Ahol E (expected value, szokás jelölés még: $\langle x \rangle$, $\overline{x}$) a várható értéket jelöli. Tulajdonképpen azt jellemzi a kovariancia, hogy a két valószínűségi változó mennyire mozog együtt. Érdemes még tovább elemezni a $\chi = \xi$ esetet:

$$cov(\xi, \xi) = \left\langle \xi^2 \right\rangle - \langle \xi \rangle^2 = \sigma_\xi^2 = var_\xi \tag{3.2.2}$$

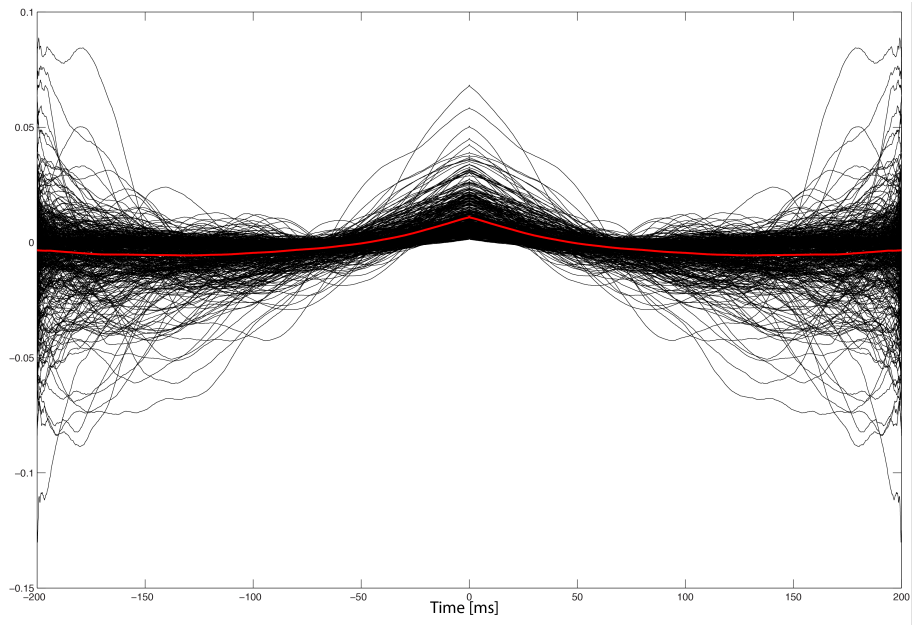
ez épp a ξ valószínűségi változó szórás négyzete, azaz varianciája. Legyen n darab valószínűségi változónk: $x_1, x_2, \ldots, x_n$. Ekkor ezeknek a kovariancia mátrixát az alábbi módon definiáljuk:

$$\Sigma_{ij} = cov(x_i, x_j) \tag{3.2.3}$$

[3]Konvenció szerint a független zajokat fehér zajoknak, az önmagával korreláló zajokat pedig színes zajoknak nevezzük. Elektrofiziológiai kísérleteknél tipikusan színes zajok jelennek meg.



3.2.1. ábra. Sok *"üresjárásban"* mért alapvonal (baseline) zajadat. Az egyes adatsorok különböző színnel jelölve.



3.2.2. ábra. Sok autokorrelációs eredmény feketével és azok átlaga pirossal. Exponenciális lecsengés jellegű időbeli korrelációt mutat.

Ez a mátrix szimmetrikus, mivel a 3.2.1 kifejezés invariáns a változócserére, valamint a főátlójában a változók szórás négyzetei szerepelnek 3.2.2 kifejezés értelmében. Tehát ez a mátrix tartalmazza a valószínűségi változók szórás négyzeteit és minden egyes tag minden másikkal vett kovarianciáját.

A mi esetünkben a valószínűségi változók az egyes időpillanatokban mért pontok.

Ezeknek a valószínűségi változóknak a kovarianciáját csak a kísérleti zaj határozza meg, állandó bemenet mellett (pl. alapvonal). A kísérleti zaj autokorrelációs függvényéből, pedig meghatározható az adatsor kovariancia mátrixa.

A következő alfejezetekben a zajmodellekkel foglalkozunk.

3.2.3. Fehér független zaj

tulajdonságai Tegyük fel hogy a kísérleti zajunk Gauss fehér zaj ($z = g_w$). Ennek a következő tulajdonságai vannak:

$$\langle g_w(t) \rangle = 0 \tag{3.2.4}$$

vagyis várható értéke nulla – azaz időben kiátlagolódik – és

$$\langle g_w(t) g_w(s) \rangle = 2D\delta(t - s) \tag{3.2.5}$$

időben független, nem korrelál önmagával a zajfüggvény, mivel az autokorrelációs függvénye egy *Dirac-delta* függvény[4]. A zaj szórását könnyen levezethetjük 3.2.4 és 3.2.5 összefüggésekből:

$$\langle g_w(t) g_w(t) \rangle = \left\langle g_w(t)^2 \right\rangle = 2D \tag{3.2.6}$$

$$\left\langle g_w(t)^2 \right\rangle - \langle g_w(t) \rangle^2 = 2D \tag{3.2.7}$$

$$\sigma_w = \sqrt{2D} \tag{3.2.8}$$

kovariancia mátrixa A fehér zaj tulajdonságait diszkretizálva és visszahelyettesítve a 3.2.1 képletbe, a kovarianciamátrix elemei így alakulnak:

$$\Sigma_{ij} = 2D\delta_{ij} = \sigma_w^2 \delta_{ij} \tag{3.2.9}$$

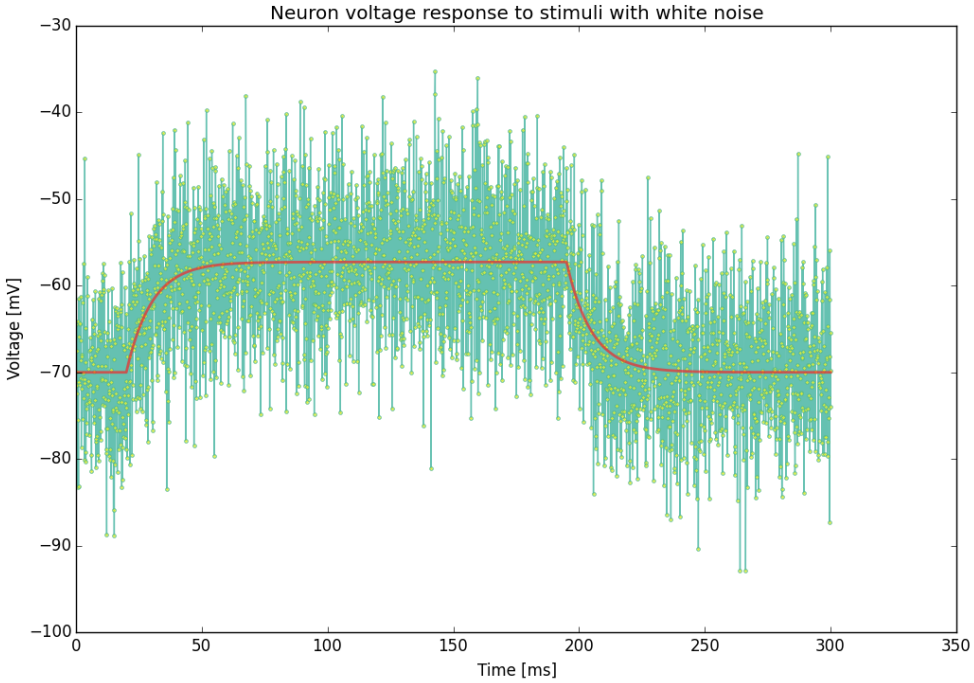
ahol δ_{ij} a *Kronkecker-delta* kifejezés, az indexek az adott időpillanathoz tartozó mérési eredményeket jelölik és σ_w pedig a zaj szórását. Ez azt jelenti, hogy a mátrix diagonálisában szerepelnek a szórásnégyzetek.

előállítása Ilyen zajt egy normál eloszlásból való véletlen mintavételezéssel generálhatunk. Az így kapott zaj szórása megegyezik a normál eloszlás σ paraméterével. A *Python Numpy* csomagjában található egy ilyet megvalósító függvény, amit munkánk során használtunk. Egy ilyen zaj látható a 3.2.3-ábrán.

3.2.4. Exponenciálisan korreláló színes zaj

A kísérleti zajok egy sokkal realisztikusabb modellje az önmagával időben exponenciálisan korreláló színes zaj. Ez a zajmodell jobban leírja az elektrofiziológiai kísérletek során keletkező zajt.

[4] $\delta(x)$ jelöli a *Dirac-delta* függvényt, ami mindenhol nulla csak $x = 0$-ban végtelen, valamint teljes térre vett integrálja 1.



3.2.3. ábra. Determinisztikus függvény (piros) és az arra rakott $\sigma_w = 7\,[mV]$ szórású fehér zajból előálló szintetikus adatsor (zöld).

tulajdonságai Tegyük fel hogy a kísérleti zajunk színes zaj ($z = \epsilon$). Ennek a következő tulajdonságai vannak:

$$\langle \epsilon(t) \rangle = 0 \tag{3.2.10}$$

vagyis várható értéke nulla és

$$\langle \epsilon(t)\epsilon(s) \rangle = D\lambda \exp\left(-\lambda\,|t-s|\right) \tag{3.2.11}$$

önmagával exponenciálisan korrelál, mivel az autokorrelációs függvénye exponenciálisan lecsengő. Ebben a képletben D az amplitúdó és λ pedig a karakterisztikus idő reciproka ($1/\tau$), azt mondja meg, hogy milyen gyorsan cseng le a korreláció időben, az adatpontok között. Szórása a 3.2.10 és 3.2.11 összefüggésekből:

$$\langle \epsilon(t)\epsilon(t) \rangle = \left\langle \epsilon(t)^2 \right\rangle = D\lambda \tag{3.2.12}$$

$$\left\langle \epsilon(t)^2 \right\rangle - \langle \epsilon(t) \rangle^2 = D\lambda \tag{3.2.13}$$

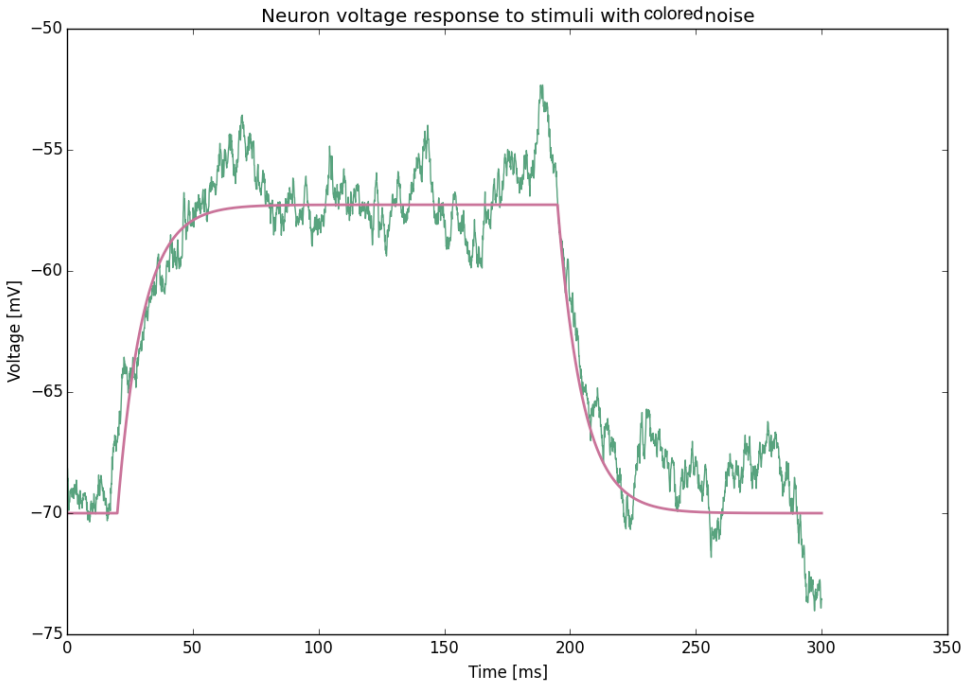
$$\sigma_\epsilon = \sqrt{D\lambda} \tag{3.2.14}$$

kovariancia mátrixa A színes zaj tulajdonságait visszahelyettesítve a 3.2.1 képletbe, a kovarianciamátrix elemei így alakulnak:

$$\Sigma_{ij} = D\lambda e^{-\lambda|t_i - t_j|} = \sigma_\epsilon^2 e^{-\lambda|t_i - t_j|} \tag{3.2.15}$$

ahol t_i az i-edik időpillanat. Erről az olvasható le, hogy a mátrix diagonálisában ismét a szórás négyzetek helyezkednek el, mivel $e^0 = 1$. Viszont most az *"offdiagonális"* helyeken is megjelennek a szórásnégyzetek, méghozzá egy (τ) karakterisztikus idővel lecsengő exponenciális szorzótényezővel, ami a diagonálistól távolodva egyre inkább *"kioltja"* az elemeket. Ha $\lambda \to \infty$, illetve $\tau \to 0$, akkor visszakapjuk a független, fehér zaj esetét, amikor csak a diagonális elemek nem nullák.

előállítása Egy ilyen tulajdonságú zaj előállítása nem triviális feladat. Ronald F. Fox és Ian R. Gatland által kifejlesztett metódust [7] implementáltuk *Pythonban*. A 3.2.4-ábrán látható, hogy hogyan viselkedik egy színes zaj – jelen esetben az exponenciálisan korreláló. Látható módon ez tényleg korrelál önmagával. Ez a zaj $D = 30$ és $\lambda = 0.1$ paraméterekkel állt elő.



3.2.4. ábra. Exponenciálisan lecsengő $\sigma_\epsilon = \sqrt{3}\,[mV]$ szórású és $\tau = 10[ms]$ karakterisztikus idejű, exponenciális lecsengésű színes zaj, ami rárakódott a determinisztikus (piros) függvényre, így állítva elő szintetikus adatot. Passzív idegsejt áramimpulzusra adott feszültségválasza jelenik meg a képen. Szemmel látható az időbeli korreláció: az adatpontok fel, illetve lekúsznak szinte folytonosan, nem úgy, mint fehér zajnál.

3.3. Likelihood függvény

A 3.1 fejezetben már volt szó a likelihood függvény szerepéről. Most arról lesz szó, hogy milyen módszerrel konstruálhatjuk meg.

Azt szeretnénk elérni, hogy a kísérleti adatokat összemérjük a modellünk eredményeivel, a zaj figyelembevétele mellett. Ehhez megvan a modellünk a *Neuron* programban és tegyük fel, hogy kísérleti adataink is vannak. Össze kell hasonlítanunk a kísérleti eredményünket a modell szolgáltatta eredménnyel. Az eltérést látható például a 3.2.4-ábrán is, ahol a zölddel jelöljük a kísérleti adatokat és a piros (determinisztikus) függvény a modellünk – adott paraméterek melletti – eredménye.

Ezekhez a paraméterekhez – melyek a 3.2.4 vagy 3.2.3 ábrákon a piros függvénymenetet eredményezték – szeretnénk egy valószínűségi értéket társítani, ami jellemzi a kísérleti adatokkal való egybevágóságot. Legáltalánosabb módszer az adatpontok négyzetes eltéréseit venni és ezzel jellemezni a két függvénymenet *"távolságát"*. A likelihood függvényünket úgy konstruáltuk meg, hogy az így kapott eltérésnégyzeteket beleraktuk egy – kísérleti zajnak megfelelő szórású – normál eloszlásba. Következő pontokban megnézzük a likelihood jelentését, valamint matematikai formába öntjük.

3.3.1. Likelihood értelmezése

A likelihood függvény tulajdonképpen úgy áll elő, hogy a kísérleti adatsorom (D) és a modellem ($\mathcal{M}$) – adott paraméterek melletti (Θ) – eredményének különbségét berakom a zaj eloszlásfüggvényébe (P_z), amely esetünkben egy megfelelő szórású – vagy kovariancia mátrixú – normál eloszlás lesz ($\mathcal{N}$):

$$\mathcal{L}\left(D|\Theta\right) = P_z\left(D - \mathcal{M}\left(\Theta\right)\right) = \mathcal{N}\left(D - \mathcal{M}\left(\Theta\right)\right) \tag{3.3.1}$$

Másképp megfogalmazva a likelihood megmondja, hogy az adott paraméterek melletti determinisztikus modelleredményt kivonva az adatsorból, milyen mértékben kapjuk vissza a zajt:

$$D = D^* + z = \mathcal{M}\left(\Theta^*\right) + z \tag{3.3.2}$$

$$\mathcal{L}\left(D|\Theta\right) = P_z\left(z + \mathcal{M}\left(\Theta^*\right) - \mathcal{M}\left(\Theta\right)\right) \tag{3.3.3}$$

3.3.2. Normál eloszlásból likelihood

A függvény alakjának tehát célszerű a normál (Gauss) eloszlást választani, amely egydimenziós esetében az alábbi módon néz ki:

$$\mathcal{N}\left(x|\mu,\sigma^2\right) = \frac{1}{\sqrt{2\pi\sigma^2}} e^{-\frac{(x-\mu)^2}{2\sigma^2}} \tag{3.3.4}$$

ahol μ a valószínűségi változó várható értéke és σ pedig a szórása.

A likelihood függvényünket ebben a formában szeretnénk kifejezni, ehhez a következőket kell tennünk fehér zaj esetén: vesszük az adatpontok négyzetes eltéréseinek összegét $\left(\sum_{i=1}^{N} x_i^2\right)$, melyet jelöljük $x_s(D,\Theta)^2$-el – mely a modell aktuális paramétereinek értékektől és a kísérleti adatoktól függ –, valamint a zaj szórása legyen σ_w.

Ekkor a likelihood függvényünk az alábbi alakú lesz:

$$\mathcal{L}\left(D|\Theta\right) \propto e^{-\frac{x_s^2}{2\sigma_w}} \tag{3.3.5}$$

Elég arányosságról beszélni, mivel a végén úgyis normáljuk az eredményünket.

Mivel a kísérleti adatsorunk sok pontból áll és színes zaj esetén ezek az adatpontok nem függetlenek, érdemes az általános N dimenziós normál eloszlást bevezetni:

$$\mathcal{N}\left(\boldsymbol{x}|\boldsymbol{\mu}, \underline{\underline{\Sigma}}\right) = \frac{1}{\sqrt{(2\pi)^D \det \underline{\underline{\Sigma}}}} \exp\left[-\frac{1}{2}\left(\boldsymbol{x}-\boldsymbol{\mu}\right)^T \underline{\underline{\Sigma}}^{-1}\left(\boldsymbol{x}-\boldsymbol{\mu}\right)\right] \tag{3.3.6}$$

ahol $\underline{\underline{\Sigma}}$ a valószínűségi változók kovariancia mátrixa, $\boldsymbol{\mu}$ pedig a hozzájuk tartozó várható érték.

Az általános likelihood függvényünk ezek alapján a következő módon áll elő:

$$\mathcal{L}(D|\Theta) \propto \exp\left[-\frac{1}{2}\boldsymbol{x}^T \underline{\underline{\Sigma}}^{-1}\boldsymbol{x}\right] \tag{3.3.7}$$

ahol $\boldsymbol{x}(D, \Theta)$ a modell determinisztikus eredményének ($\mathcal{M}\left(\Theta\right)$) és a kísérleti adatsornak (D) az eltérésvektora[5]. Minden t mérési időponthoz egy érték tartozik, tehát a vektor annyi elemből áll, ahány mérési pontunk van. A fenti képletben $\underline{\underline{\Sigma}}$ pedig a zaj kovariancia mátrixa.

független eset Speciális eset ha a kovariancia mátrixnak csak a főátlójában helyezkednek el tagok, ami azt jelenti, hogy a pontok függetlenek (a zaj időben független), így szétválik a valószínűségi eloszlásfüggvény az egydimenziós esetek szorzat alakjára. Ha feltesszük, hogy a diagonálisban ráadásul ugyan azok a szórásértékek szerepelnek, akkor:

$$\exp\left[-\frac{1}{2}\boldsymbol{x}^T \underline{\underline{\Sigma}}^{-1}\boldsymbol{x}\right] \to e^{-\frac{x_s^2}{2\sigma_w}} \tag{3.3.8}$$

Tehát az általános – nem feltétlenül független – esetből visszakaptuk a független esetet.

3.3.3. Likelihood megkonstruálása numerikusan

Tekintsük át a lépéseket, melyekkel előállítjuk a likelihood függvényünk. A 3.3.7 képletnek kell szolgáltatni egy $\boldsymbol{x}$ vektort és egy $\underline{\underline{\Sigma}}$ mátrixot, amely végül eredményül egy skalárt ad, ami az adott paraméterkombináció *"jóságát"* jellemzi. Az előbbi a pontbeli eltérésekből gyártott vektor $(D - \mathcal{M}\left(\Theta\right))$, az utóbbi pedig a kísérletből fakadó zaj autokorrelációs függvénye által meghatározott kovariancia mátrix.

[5] Ami tulajdonképpen nem más mint a zaj, a megfelelő paraméterek esetén, azaz: $(D - \mathcal{M}\left(\Theta^*\right)) = z$

Ha az adatpontokat függetleneknek, vagy függőknek tekintjük, érdemes különböző módon eljárni, mivel független esetben olyan egyszerűsítések végezhetők, melyek csökkentik a számítás és memóriaigényt:

független eset Ebben az esetben azért végezhetők egyszerűsítések, mert a valószínűségi változók függetlennek, így az eloszlásfüggvény sokdimenziós alakból egydimenziós eloszlások szorzataira bomlik. Ekkor a likelihood értékek konstruálását a következő lépések írják le:

1. Adott paraméterkombinációval ($\mathbf{\Theta}_i$) lefuttatjuk a szimulációt ($\mathcal{M}$) a *NEURON* program segítségével.

2. Megnézzük a kísérleti és a szimulációs adatok négyzetes eltérését minden (N) pontban (x_j^2) és összegzünk is erre ($x_s^2 = \sum_{j=1}^{N} x_j^2$).

3. Az összegzett értéket megszorozzuk $-1/(2\sigma_w^2)$ -tel, ahol σ_w a független zaj szórása.

4. Ezt elvégezzük az összes lehetséges paraméterkombinációra ($\forall i$) és tároljuk az eredményeket. Numerikus okokból érdemes a legnagyobb értéket kivonni az összesből[6].

5. Végül ezt exponencializálva megkapjuk az egyes paraméterkombinációkhoz tartozó likelihood értéket: $\mathcal{L}_i(D|\mathbf{\Theta}_i)$, ahol i végigfut az összes lehetséges paraméterkombináción.

átalános eset Általános nem független esetben az előző lépések így módosulnak:

1. Adott paraméterkombinációval ($\mathbf{\Theta}_i$) lefuttatjuk a szimulációt ($\mathcal{M}$) a *NEURON* program segítségével.

2. Megnézzük a kísérleti és a szimulációs adatok eltérését minden pontban és ezeket egy vektorban tároljuk: $\boldsymbol{x} = D - \mathcal{M}(\mathbf{\Theta}_i)$.

3. A zaj inverz kovariancia mátrixát megszorozzuk balról és jobbról is az előbbi különbségvektorral és ezt egy további $-1/2$ faktorral: $-1/2 \cdot \boldsymbol{x}^T \underline{\underline{\Sigma}}^{-1} \boldsymbol{x}$

4. Ezt elvégezzük az összes lehetséges paraméterkombinációra ($\forall i$) és tároljuk az eredményt. Numerikus okokból érdemes a legnagyobb értéket kivonni az összesből.

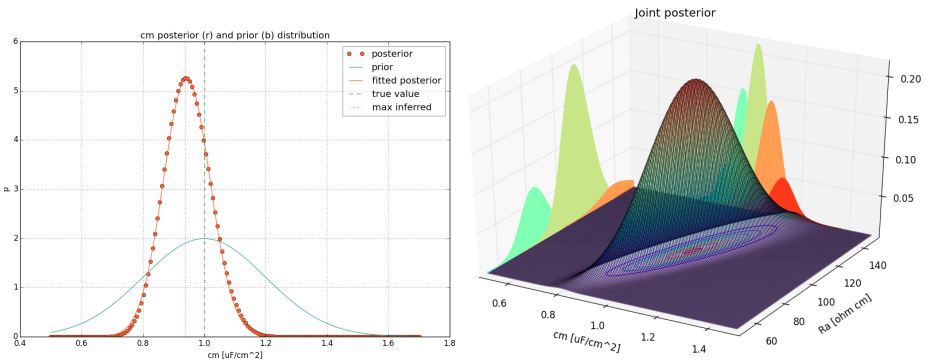
[6]Ezzel nem változtatunk semmit az eredményen, mivel csak eltoljuk a függvényt – ami negatív értékkészletű – úgy, hogy maximuma a nullába kerüljön – így a maximális likelihood értékhez $e^0 = 1$ társul majd –, de az alakja nem változik. A transzformáció segítségével viszont elérjük, hogy ne kelljen túl kicsi számokkal dolgozni, ami numerikusan problémákhoz vezethet.

5. Végül ezt exponencializálva megkapjuk az egyes paraméterkombinációkhoz tartozó likelihood értéket: $\mathcal{L}_i(D|\mathbf{\Theta}_i)$, ahol i végigfut az összes lehetséges paraméterkombináción.

poszterior megalkotása Ezután mindkét esetben hasonlóan járunk el: a likelihood függvény elemeit összeszorozzuk a prior eloszlás megfelelő elemeivel: $\mathcal{Z}_i = \mathcal{L}_i(D|\mathbf{\Theta}_i)\Pi_i(\mathbf{\Theta}_i)$. Végezetül ezt normálva kapjuk meg a poszterior eloszlásunkat: $P(D|\Theta) = \mathcal{Z}/(\sum_i \mathcal{Z}_i)$. Ezzel egy Gauss-görbére emlékeztető alakú poszterior eloszlást kapunk végeredményként, a vizsgált paramétertartomány fölött, amely a kísérlet és az előzetes ismeretek alapján egy valószínűségi értéket rendel az egyes paraméterkombinációkhoz.

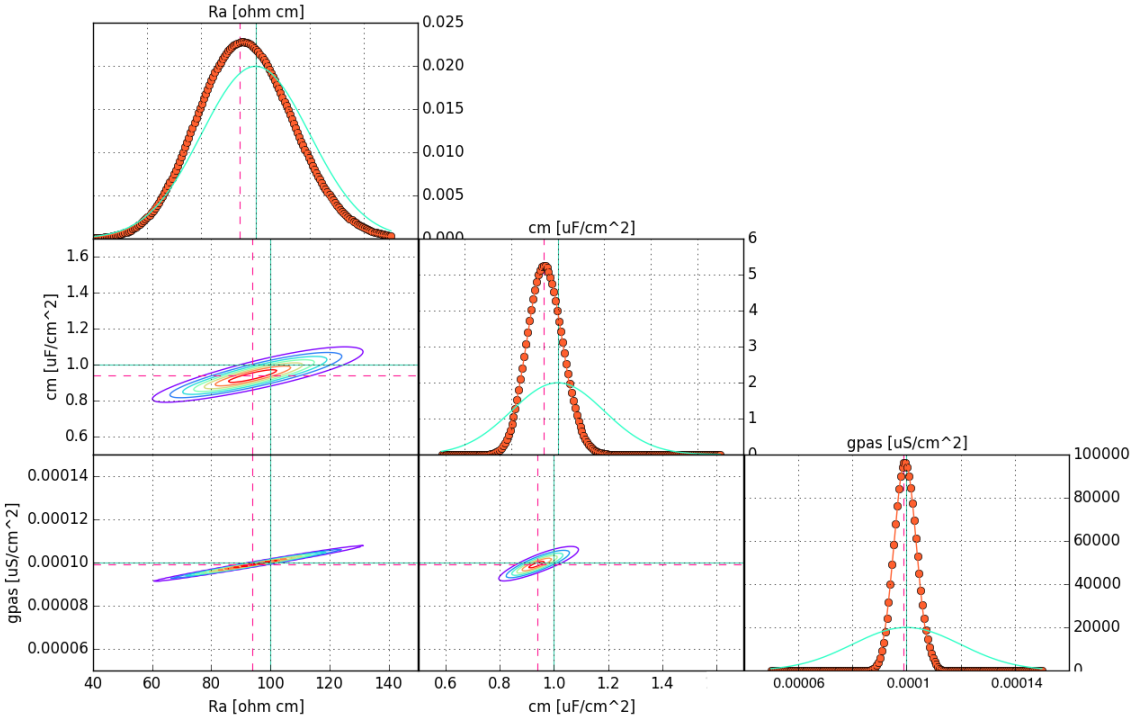
Azt hogy az adatpontok milyen módon függnek és ekkor mi lesz a 3.3.7 likelihood függvényben szereplő kovariancia mátrix, a kísérleti zaj határozza meg. Ha a kísérletből nem származna zaj (3.2-ben $D = D^*$, tehát $z = 0$), ekkor a kísérleti adatok determinisztikusak lennének és ennek a dolgozatnak nem lenne feladata – függetlenek lennének az adatpontok nulla szórással – és egyszerű paraméteroptimalizációs algoritmus elegendő lenne a tökéletes paraméterek megtalálásához, feltéve hogy maga a modell is tökéletes. Tehát ekkor már csak az lenne a kérdés, hogy a modell mennyire jól írja le a valóságot.

Az inferencia eredményeinek tipikus ábrázolási módjaira láthatunk példát a 3.3.1 és 3.3.2-ábrákon.



(a) Marginális eloszlás (b) Együttes eloszlás

3.3.1. ábra. Egy paraméterre vett marginális eloszlás egy tipikus ábrázolása látható az (a) ábrán. Kékkel a prior eloszlás, narancssárgával pedig az inferencia után kapott poszterior eloszlás. A szaggatott zöld vonal jelzi azt a paramétert, amelyet a szintetikus adat előállításánál használtunk. Pontozott piros vonal jelöli a paraméterbecslésünk által talált legvalószínűbb értéket. A (b) ábrán pedig két paraméter eloszlásának egy tipikus ábrája. Az egyes síkokra a kontúrvonalak vannak levetítve.



3.3.2. ábra. Sok paraméter esetén – jelen esetben három – már csak több ábra együttesével vagyunk képesek jellemezni az eredményt. Ezen az ábrán három paraméter marginális és együttes eloszlásai vannak feltüntetve, megfelelő sorrendben. A *"diagonálisban"* láthatóak az egyes paraméterek marginális poszterior (narancs) és prior (kék) eloszlásai, alattuk/mellettük pedig rendre a paraméterek együttes levetített kontúr eloszlásai. Kék vonallal vannak jelölve azok a paraméterértékek, melyekből generáltuk a szintetikus adatot és magenta színű szaggatott vonallal pedig az inferencia által maximálisnak becsült értékek.

3.4. Technikai megvalósítás

A program *Pythonban* lett írva, modern, moduláris megvalósítással, így segítségével gyorsan és egyszerűen össze lehet állítani különböző futtatási modelleket. A szimulációk kiértékelése párhuzamosítva történik, így egyszerre több processzormagon is folynak a számítások, hogy a teljes erőforrás ki legyen használva. A forráskód verziókövetve lett a *GitHubon*, ez a következő link alatt érhető el: `https://github.com/terbed/parameter-inference`. Lineáris algebrai számításokhoz, az erre a célra kifejlesztett és hatékony *NumPy* csomagot alkalmaztuk, vizualizációhoz pedig a *Matplotlib*et.

Egy paraméterbecslés összeállításának tipikus menete, azaz egy példakód látható a 3.4.1-ábrán és magyarázat az ábraleírásban. Először a különböző paramétereket kell beállítani, majd ezeket sorjában megadni a *ParameterSet* objektumnak, amely elkészíti a paramétertér felosztását. Ez bármennyi paraméterre, általánosan működik. Viszont a paraméterek számának növekedésével robbanásszerűen nő a futtatan-

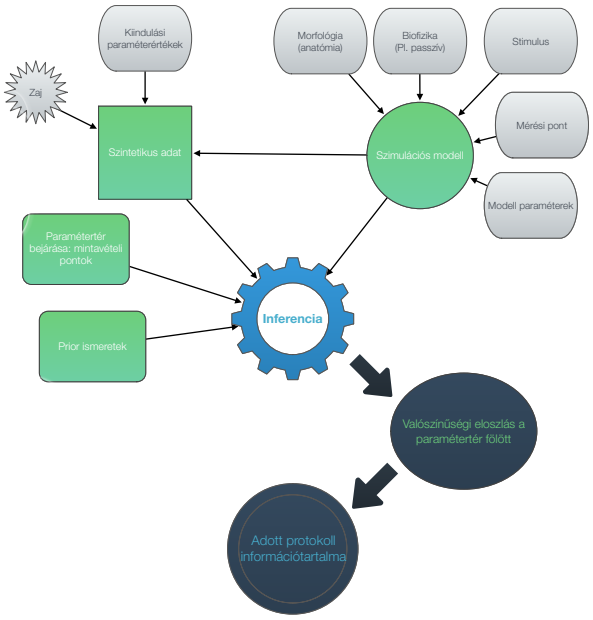
dó szimulációk száma is, így a *"brute force"* megoldás, vagyis az egész paramétertér kiértékelése gyakorlatilag nem fut le ésszerű időn belül – bizonyos számú paraméter és felbontás mellett. Következő lépésben a *ParameterSet* objektumot meg kell adni az inferenciát végző, a példa esetében *IndependentInference* objektumnak, amely ezen kívül még vár zajszórást, céladatsort és szimulációs modellt. Inicializálás után az osztály *run_sim()* metódusával kezdjük el kiértékelést több szálon is. Végül az eredmények vizualizációja is automatikusan történik.

```
from module.noise import white
from module.probability import RandomVariable, ParameterSet, IndependentInference
from module.simulation import stick_and_ball
from module.plot import plot_joint, fullplot

noise = 7.

# 1.) Parameters to infer
cm = RandomVariable(name= 'cm', range_min=0.5, range_max=1.5, resolution=60, mean=1., sigma=0.2)
gpas = RandomVariable(name='gpas', range_min=0.00005, range_max=0.00015, resolution=60,
mean=0.0001, sigma=0.00002)
# Ra = RandomVariable(name='Ra', range_min=50., range_max=150., resolution=60, mean=100.,
sigma=20.)

# 2.) Set up parameter set
cm_gpas = ParameterSet(cm, gpas)

# 3.) Sythetic data
t, v = stick_and_ball()
exp_v = white(noise, v)

# 4.) Set up inference
inf = IndependentInference(model=stick_and_ball, noise_std=noise, target_trace=exp_v,
parameter_set=cm_gpas, working_path="", speed='max', save=False)

# 5.) Run inference
if __name__ == "__main__":
    inf.run_sim()

# 6.) Run evaluation
inf.run_evaluation()

# 7.) Plot solution
print inf
plot_joint(inf, cm, gpas)
fullplot(inf)
```

3.4.1. ábra. Egy kétparaméteres, fehér zajos *Stick and Ball* modell inferenciája látható. Az importált modulok rövid leírása: A *noise* modul tartalmazza a fehér és színes zaj generálásához szükséges kódot. A *probability* modul az inferencia lelke, itt történik az egyes paraméterek és a paraméterkombinációk (paramétertér) létrehozása, valamint a kiértékelésük is. A *simulation*ben találhatóak az épített idegsejtmodelljeink, itt történik az interakció a *NEURON* programmal. A *plot* modulban találhatók a vizualizációért felelős kódok.

3.5. Összegzés

Az előző pontokban láttuk, hogyan hozhatunk létre zajmodelleket és likelihood függvényt, majd abból poszterior eloszlást. Szintetikus adatok előállításával és azon végzett inferenciával szeretnénk az egyes kísérleti protokollok információtartalmát jellemezni, melyek a vizsgált idegsejt anatómiájából (térbeli kiterjedés), biofizikai tulajdonságaiból (pl. passzív modell, vagy Hodgkin-Huxley aktív modell), ingerlés típusából (stimulus helye és formája), valamint az idegsejten végzett mérés helyéből tevődik össze. A 3.5.1-ábrán látható az előbbiek sematikus rajza.



3.5.1. ábra. Ezen az ábrán a módszer sémája látható.

4. Eredmények

A vizsgálatok menete tipikusan úgy zajlik, hogy szintetikus *"kvázi-kísérleti"* adatokat állítunk elő: Összeállítottunk két idegsejtmodellt – egy egykompartmentumos, amely egyetlen szómából áll és egy *"Ball and Stick"* modellt, amely pedig egy szómához csatlakozó dendritből áll – és ennek az adott modellparaméterek melletti áramlépcső stimulusra adott válaszfüggvényére zajt raktunk, így szimulálva a kísérleti adatokat. Majd ezekre az adatokra végeztük el a paraméterbecslést. Ezzel a módszerrel vizsgálni tudjuk az inferencia pontosságát, mert ismerjük a kiinduló, *"igazi"* paramétereket. Minden esetben passzív idegsejtmodellekkel dolgoztunk.

Ugyanazokat a becsléseket – új kezdeti paraméterek és zaj megvalósulásokra – sokszor elvégeztük és a következő, inferencia minőségét jellemző statisztikákat állítottuk fel rájuk:

1. **Eltérés *(diff)***: Az inferencia során becsült paraméter mennyire van távol az eredeti, kiindulási paramétertől.

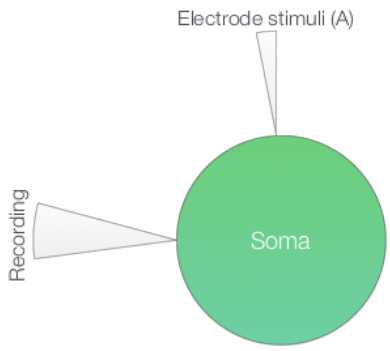
2. **Pontosság *(acc)***: A becsült paraméter poszterior eloszlásának maximuma (legvalószínűbbnek becsült paraméter valószínűsége, azaz maximális valószínűség) hányszorosa a kiindulási (eredeti) paraméterértékhez társított valószínűségnek: $p_{true}/p_{max} \cdot 100$.

3. **Élesség *(gain)***: A poszterior eloszlás hányszor élesebb a priornál: Π_s/P_s. Ez természetesen akkor jellemzi a különböző eseteket, ha ugyanakkora prior eloszlással számolunk. Az eloszlás élességét úgy vizsgáljuk, hogy a görbe csúcsától a feléig veszünk egyenletesen 50 magasságpontot – illetve függvényértéket y –, amikhez tartozó x-értékek – ebből kettő van ideális esetben, mert a normál eloszlás szimmetrikus – távolságát összegezzük, majd normáljuk 50-el az eredményt. Ez az egyik legfontosabb jellemző, mert arra nyújt betekintést, hogy a mérés mennyi új információt hordozott.

Ezeket a statisztikákat elvégeztük különböző modellekre – különböző zajmodellek mellett – és kísérleti protokollokra, melynek eredményeit a következő pontokban részletezzük. Végezetül valódi kísérleti adatokra is alkalmaztuk a paraméterbecslési eljárásunkat, valamint vizsgáltuk a kísérleti zaj tulajdonságait.

4.1. Egykompartmentumos modell

Először a 2.3-fejezetben tárgyalt passzív egykompartmentumos modellre alkalmazzuk a megoldásainkat. Egy pontszerű szómát ingerlünk áramimpulzus bemenettel, valamint mérjük a feszültségválaszát. Ennek szemléltetése látható a 4.1.1-ábrán.



4.1.1. ábra. Egykompartmentumos modell szemléltető ábrája. Egyetlen pontszerű – nincs térbeli kiterjedés – szómát stimulálunk az elektróda árammal és mérjük a feszültségválaszát.

Egy 175 $[ms]$-on keresztül injektált 0.1 $[mA]$ áramerősség stimulusú – és passzív biofizikai beállítású – protokollt alkalmaztunk az alábbiakban. Továbbá a fehér zaj szórásának mindenhol $\sigma_w = 7\,[mV]$-ot választottunk. Hasonló beállításokkal előállított adatsor tekinthető meg a korábbi 3.2.3-ábrán. Színes zaj szórásának pedig $\sigma_\epsilon = \sqrt{3}\,[mV]$-ot és az időbeli korreláció lecsengési idejét jellemző karakterisztikus idejének pedig $\tau = 10\,[ms]$-ot. Ezt szemlélteti a korábbi 3.2.4-ábra.

4.1.1. Fehér zaj

egy paraméter Az a kérdés, hogy passzív egykompartmentumos modell áramlépcső stimulusra adott feszültségválasza segítségével, milyen pontosan tudunk egy paramétert – jelen esetben a cm membránkapacitás paraméterét – becsülni.

Az eredmények a 4.1.2-ábrán láthatóak. A legfontosabb jellemző mennyiség az élesség, amely jelen esetben 2.75-nek adódott. Ez azt jelenti, hogy szimulációk során a poszterior eloszlás átlagosan 2.75-ször élesebb (hegyesebb) volt a prior eloszlásnál. A mérés után ennyi új információra tehetünk szert az adott paraméterre nézve.

két paraméter Itt azt vizsgáljuk, hogy együtt inferálva cm paramétert egy másik (g_{pas}) paraméterrel, az mennyire befolyásolja a cm becslését.

A 4.1.3-ábrán látható egy futtatás tipikus eredménye a két paraméter együttes poszterior eloszlására. Ebből látszódik, hogy g_{pas} paraméter nagyon pontosan becsülhető, ennek következtében nem rontja le a másik (cm) paraméter becslését. Másképp fogalmazva az együttes eloszlás, szinte épp maga a cm paraméter marginális eloszlása.

A 4.1.4-ábrán látható a sok futtatás eredményéből származó marginális eloszlások és statisztikák mindkét paraméterre. Ezeken látszódik, hogy g_{pas} paraméter eloszlása tényleg nagyon éles, a priorjánál 15.87-szer élesebb a poszteriorja. Tehát ezt a paramétert pontosan tudjuk becsülni. Továbbá az is látható, hogy a cm paraméter marginális poszterior eloszlásának alakja valóban lényegesen nem változott, nem romlott a becslés pontossága – a fentebbi meggondolásokkal egybevágóan.

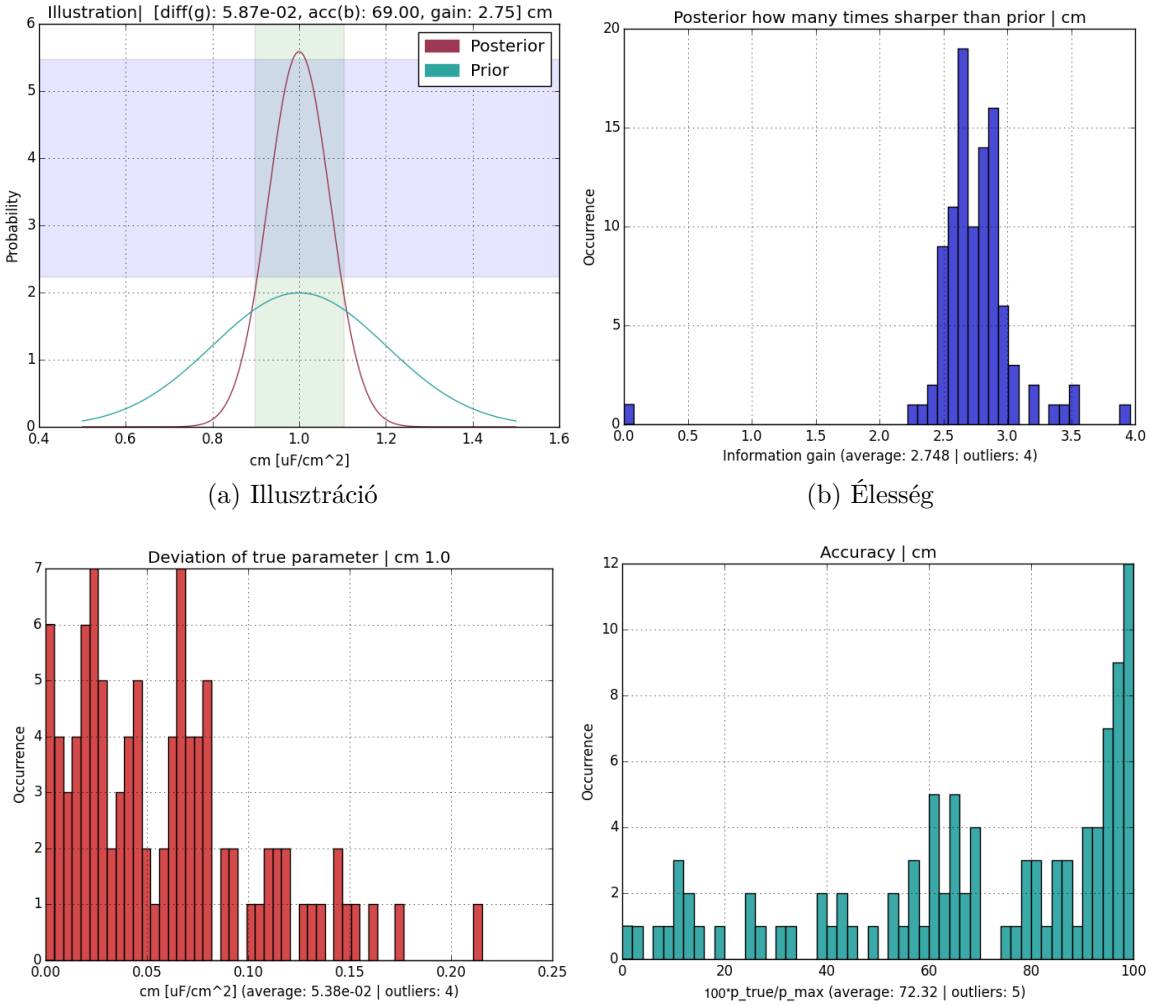
4.1.2. Színes zaj

A kétparaméteres becslést exponenciálisan lecsengő autokorrelációval rendelkező színes zaj esetére is elvégeztük. Azt várjuk, hogy a becslés pontossága csökkenni fog, mivel az adatpontok nem függetlenek, így kevesebb effektív mintavételi pontunk van – még akkor is, ha növeljük az időbeli felbontását.

A paraméterek együttes eloszlása a 4.1.5-ábrán láthatóak. Összehasonlítva a fehér zajos esettel ez tényleg kevésbé éles. A 4.1.6-ábrán pedig a sok szimuláció átlagos, egyes paraméterekre marginalizált eredménye látható.

Az eredmények azt mondják, hogy valóban pontatlanabb a becslés színes zaj esetén, hiszen mindkét paraméter *élessége* csökkent: cm-nek 1.92 és g_{pas}-nak pedig

7.66. És mindezt úgy, hogy ráadásul kisebb ($\sigma_\epsilon = \sqrt{3}\,[mV]$) szórást alkalmaztunk mint fehér zajnál ($\sigma_w = 7\,[mV]$)!



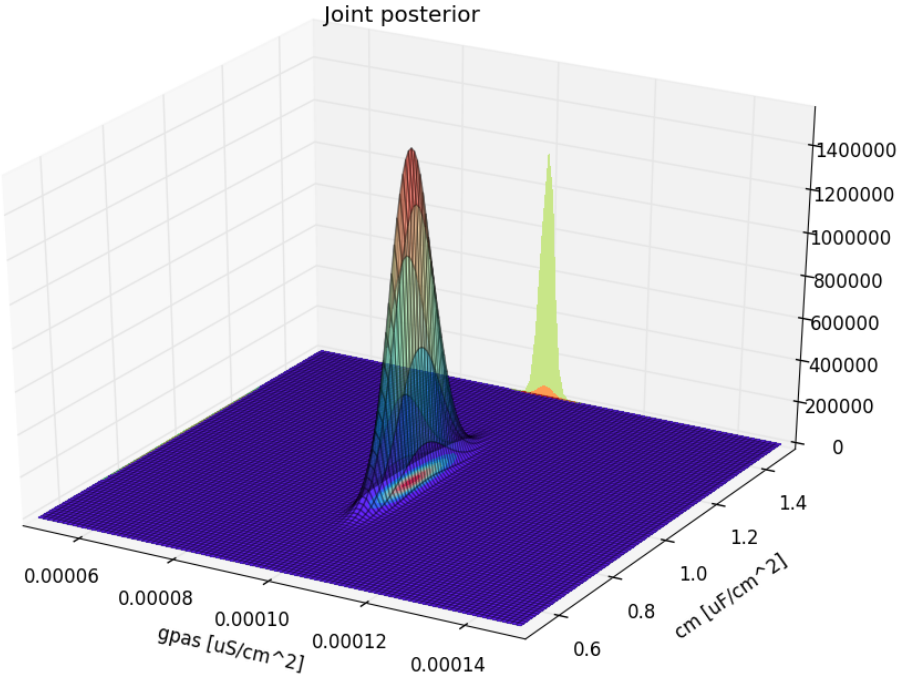
(a) Illusztráció

(b) Élesség

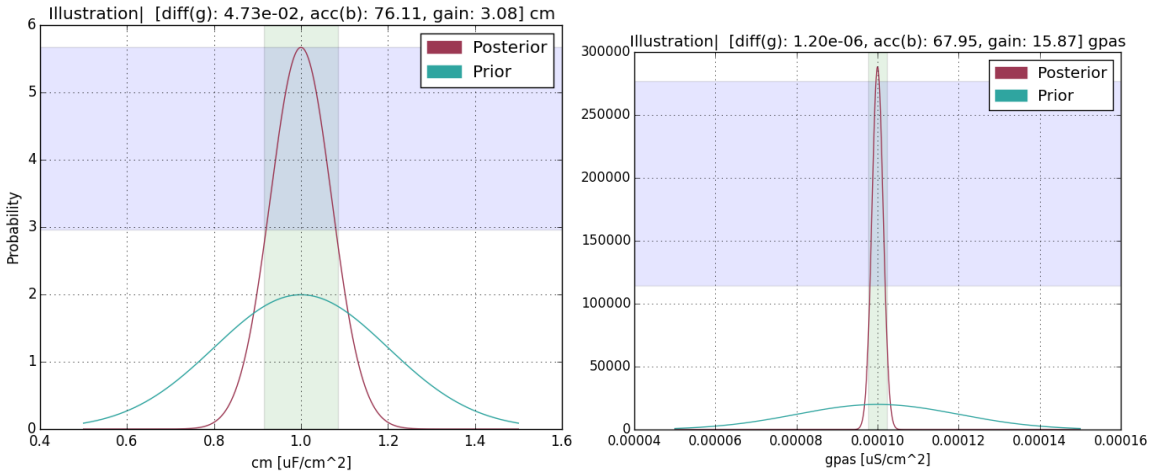
(c) Eltérés

(d) Pontosság ($p_{max}/p_{true} \cdot 100$)

4.1.2. ábra. 100 db szimuláció összefoglaló ábrái az egyparaméteres, fehér zajos becsléshez. Az **(a)** rész illusztrálja a szimulációk során előforduló átlagos posterior alakot, valamint egyéb statisztikákat is feltüntet: A fejlécen láthatóak (sorban) az **eltérés**(diff), **pontosság**(acc) és **élesség**(gain) átlagos értékei. Továbbá a függőleges zöld sáv azt jelzi, hogy a valódi érték milyen tartományban mozgott, ha ezt a posztériort kaptuk. Vagy épp ellenkezőleg úgy is felfoghatjuk, hogy ha a prior csúcsánál van a valódi érték, akkor a becsült posztérior maximuma a zöld sávban mozgott szimulációk során. Végül a vízszintes kék sáv azt mutatja, hogy a valódi értékekhez milyen valószínűségeket rendelt a posztérior általában – ez konzisztens az előzővel. Az előbbiek szépen szemléltetik a valószínűségi felfogást: a posztérior alatti tartományomban lesz valahol az igazi érték, de nem biztos, hogy a maximális valószínűségnél. **(b)**, **(c)** és **(d)** ábrarészleteken pedig az előbbi értékek hisztogramos ábrázolása látható.

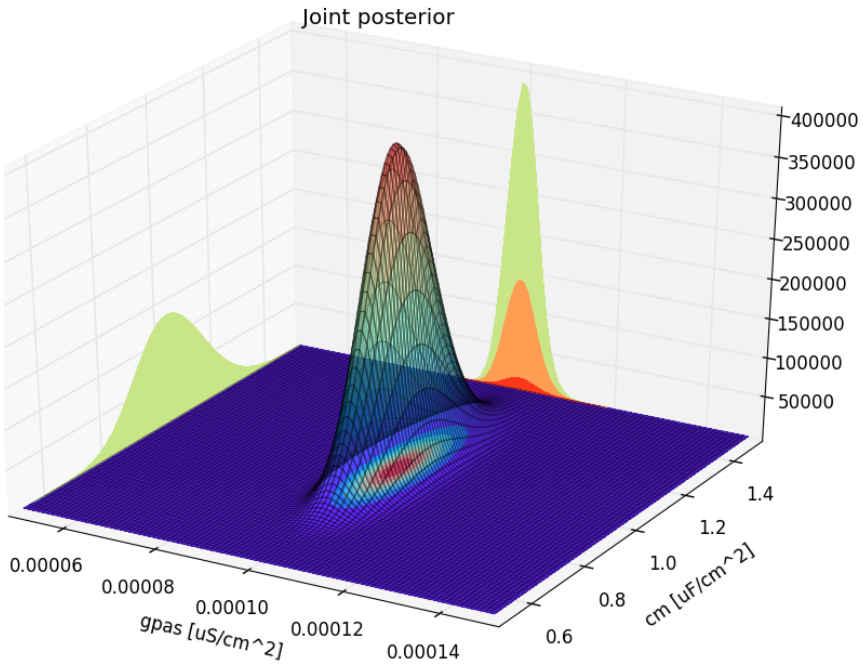


4.1.3. ábra. Egy futtatásból származó kétparaméteres, fehér zajos becslés együttes eloszlása. Láthatóan g_{pas} paramétert nagyon pontosan tudjuk becsülni, cm paramétert pedig kevésbé.

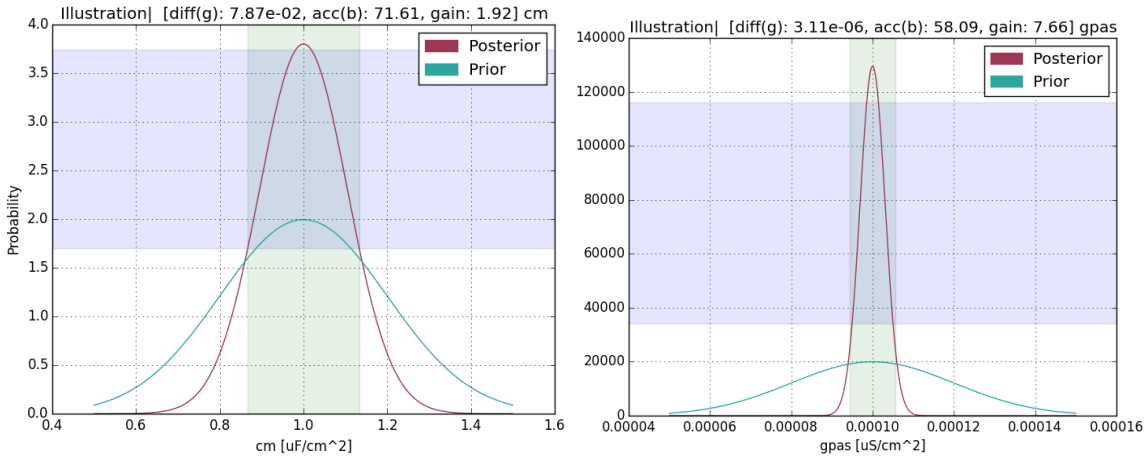


(a) cm paraméter (b) g_{pas} paraméter

4.1.4. ábra. 100 db szimuláció összefoglaló ábrái a kétparaméteres, fehér zajos becslésre, külön mind a két paraméterre. Ezek már a szimuláció során előforduló, átlagos marginális poszterior eloszlásalakok az egyes paraméterekre.



4.1.5. ábra. Egy futtatásból származó kétparaméteres, színes zajos becslés együttes eloszlása. Látható, hogy a paramétereket kevésbé pontosan tudjuk becsülni, mint a fehér zajos esetben.

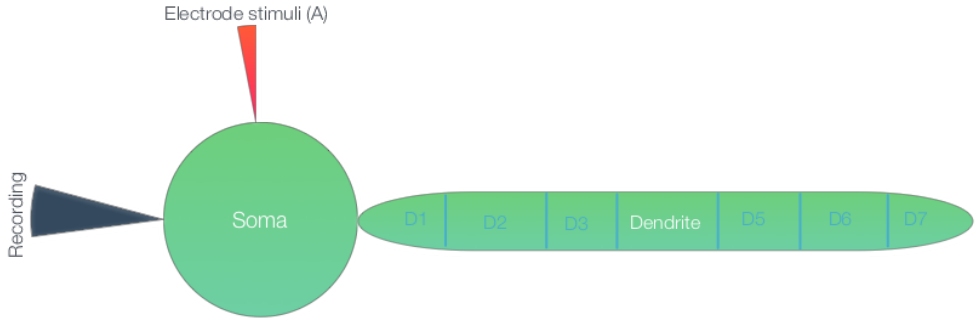


(a) cm paraméter (b) g_{pas} paraméter

4.1.6. ábra. 100 db szimuláció összefoglaló ábrái a kétparaméteres, színes zajos becslésre, külön mind a két paraméterre. Ezek már a szimuláció során előforduló, átlagos marginális poszterior eloszlásalakok, az egyes paraméterekre.

4.2. Térbelileg kiterjedt modell: *Stick and Ball*

A 2.4-fejezetben tárgyalt térbelileg kiterjedt, tőbbbkompartmentumos passzív idegsejtmodellekre is alkalmaztuk a módszerünket. Pontosabban a *Ball and Stick* modellre, amely egy szómához csatlakozó dendritből áll. A szómába injektáltuk az elektróda áramot és azon is mértünk. Ennek szemléltetése látható a 4.2.1-ábrán.



4.2.1. ábra. Térbelileg kiterjedt, *Stick and Ball* modell szemléltető ábrája. Egy szómához csatlakozik egy dendrit, melyet kisebb kompartmentumokra bontunk $(D1, D2, ...)$. A szómát ingereljük és azon is végzünk mérést.

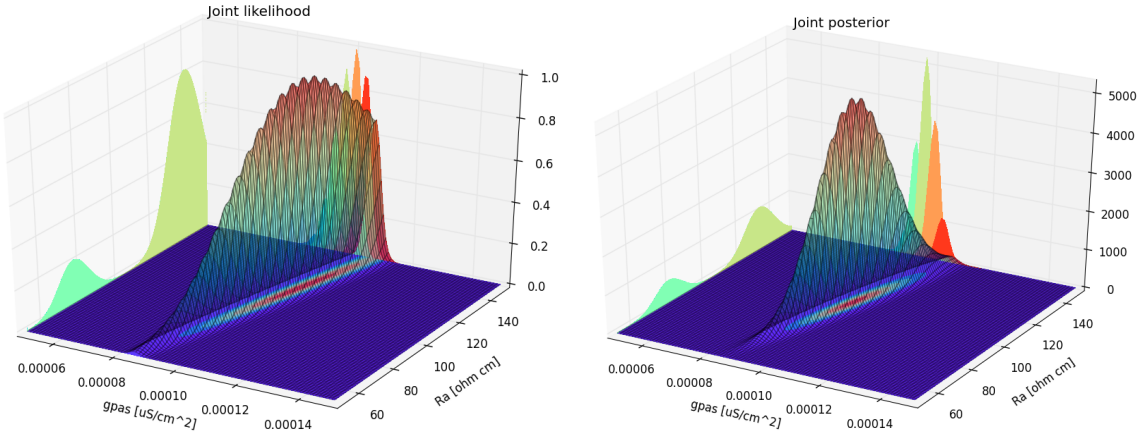
Az R_a és g_{pas} paramétereket becsüljük együtt. Azt várjuk, hogy a dendritere jellemző passzív paraméter (R_a), azaz a fajlagos axiális ellenállás meghatározása kevésbé pontos lesz, tisztán a szómán végzett mérésekből, előzetes ismereteink alapján.

Itt is egy 175 $[ms]$-on keresztül injektált 0.1 $[mA]$ áramerősség stimulusú protokollt alkalmaztunk, ugyancsak passzív biofizikai és hasonló zaj beállításokkal.

4.2.1. Fehér zaj

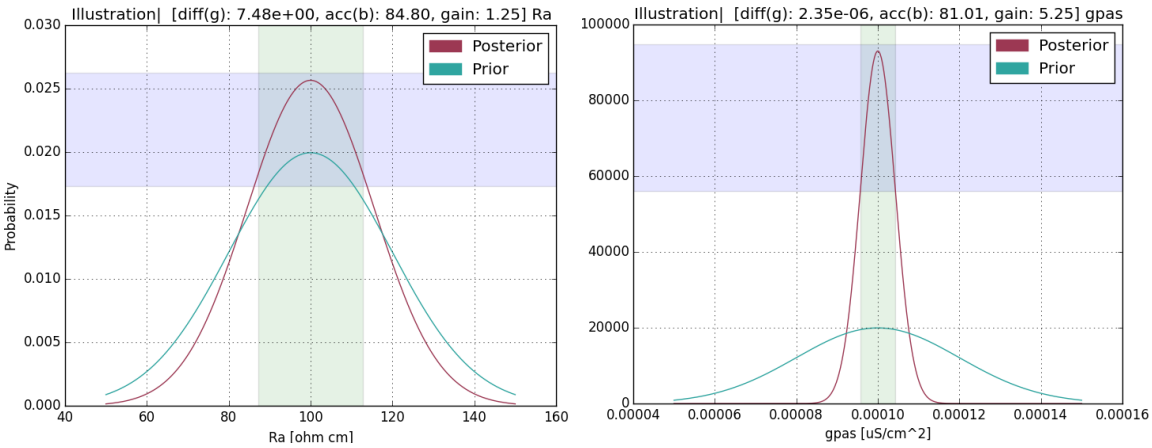
Hasonlóan az előző pontokban látottakhoz, erre az összeállításra is lefuttattuk a szimulációkat. Az egy futtatásból származó tipikus együttes likelihood függvény és poszterior eloszlás látható a 4.2.2-ábrán, valamint a sok futtatás eredménye pedig a 4.2.3-ábrán.

Az eredmények teljesen kielégítik az elvárásainkat: az R_a paraméter tényleg rosszul becsülhető tisztán az idegsejten végzett mérésekből és ez egyben (valamennyivel) rontja g_{pas} paraméter becslését is. Az együttes eloszlások ábrájáról látszódik jól, hogy ez miért történik: az $Ra - gpas$ paramétersíkra levetített ellipszisek kissé *"ferdék"*, így R_a tengelyre kiösszegezve az eloszlást, g_{pas} marginális eloszlása kiszélesedik. Előfordulhat olyan eset, hogy az egyik paramétert rosszul tudjuk becsülni, viszont ez a másikat nem rontja el – tehát a paraméterek nem *"korrelálnak"* –, akkor ha a levetített ellipszisek nem ferdék.



(a) együttes likelihood (b) együttes poszterior

4.2.2. ábra. Egy (fehér zajos) futtatásból származó likelihood(a) és poszterior(b). Szépen látszódik, hogy az R_a paraméter becslése tényleg pontatlan, míg a g_{pas} továbbra is viszonylag éles.



(a) R_a paraméter (b) g_{pas} paraméter

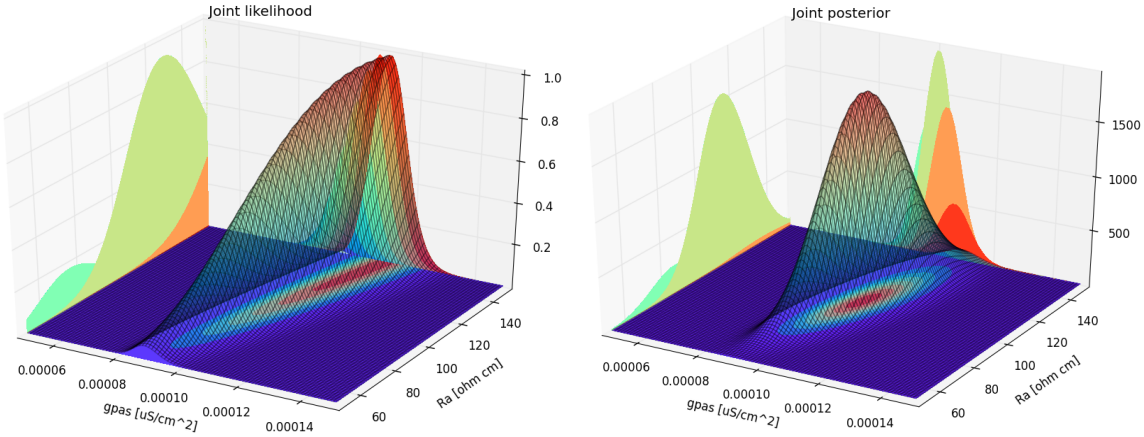
4.2.3. ábra. 100 db szimuláció összefoglaló ábrái, fehér zaj esetére. A szimuláció során előforduló, átlagos marginális poszterior eloszlásalakok az egyes paraméterekre.

4.2.2. Színes zaj

Színes zaj esetén is lefuttattuk a szimulációkat. Azt várjuk, hogy a becslés pontossága tovább csökken. A 4.2.4-ábrán láthatóak az egy futtatásból származó együttes likelihood és poszterior eredmények. A likelihood ábrájáról látható, hogy az R_a paramétert becslése tulajdonképpen nem is működik, *"elszáll"* . Eredetileg $R_a \approx 100\,[\Omega cm]$ értékből indultunk ki (ezzel az értékkel generáltuk a szintetikus adatot), viszont az inferencia azt mondja, hogy R_a paraméter tart a végtelenbe. Tehát a zaj bizonyos esetekben úgy torzítja az eredményt, hogy $R_a = \infty$ adódik, ami azt jelenti, hogy a dendrit lecsatolódik és a modell egykompartmentumúként funkcionál. Továbbá ismét

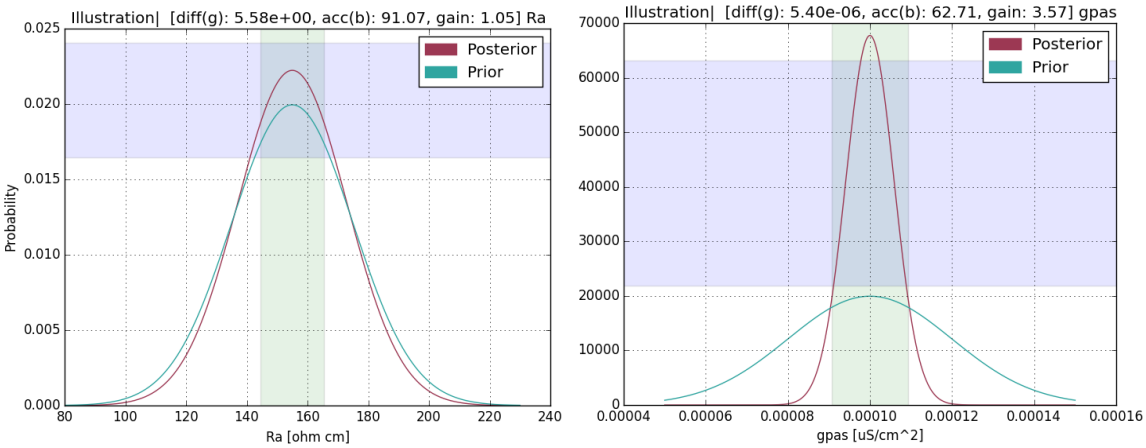
látszódik, hogy a két paraméter együttese – a két paraméter egymással kölcsönhatva – határozza meg a modell jó illeszkedését.

A 4.2.5-ábrán pedig a sok futtatás átlagos eredménye látható. Az ábráról az olvasható le, hogy R_a élessége 1.05, tehát lényegében nem nyertünk ki információt a mérésből erre a paraméterre vonatkozóan. Ez a marginális poszterior alakjából is látszódik, ami szinte rásimul a priorra.



(a) együttes likelihood (b) együttes poszterior

4.2.4. ábra. Egy (színes zajos) futtatásból származó likelihood(a) és poszterior(b). Látható, hogy tovább romlik a becslés pontossága, valamint hogy a paraméterek egymással kölcsönhatva határozzák meg a modell jó illeszkedését.



(a) R_a paraméter (b) g_{pas} paraméter

4.2.5. ábra. 100 db szimuláció összefoglaló ábrái, színes zaj esetére. A szimuláció során előforduló, átlagos marginális poszterior eloszlásalakok az egyes paraméterekre.

4.3. Kísérleti protokollok információtartalma

Ebben a részben azt vizsgáljuk, hogy különböző alakú áramimpulzusok, illetve azok kombinációi hogyan hatnak ki a paraméterbecslés pontosságára, tehát különböző kísérleti protokollokat hasonlítunk össze. Ezt elvégeztük ismét több esetben: a két zajtípusra és idegsejtmodellre. Az eredmények a két zajtípus esetén összhangban voltak. Most csak az egykompartmentumos modell, színes zaj melletti eredményeit közöljük, mert ezzel szemléltethető jól a módszerünk hatékonysága.

Három különböző idegsejt ingerlésű protokollt készítettünk és hasonlítottuk őket össze módszerünkkel. Név szerint (a) egy *hosszú és kicsi* amplitúdójú – épp amilyennel eddig dolgoztunk az előző pontokban –, (b) egy *rövid és nagy* amplitúdójú, valamint ezek kombinációjából létrejövő (c) *hosszú-rövid* áramimpulzus stimulusokat használtunk. A modell ezekre a stimulusokra adott determinisztikus feszültségválasza és az arra rakódott színes zaj látható a 4.3.1-ábra első sorjában. Zaj szórásának a szokásos $\sigma_\epsilon = \sqrt{3}\,[mV]$-ot választottuk.

Az eredményeket a 4.3.1-ábra illusztrálja. A jobb átláthatóság kedvéért, a poszterior élességének jellemző mennyiségét, az élességet összeszedtük a 4.3.1-táblázatba.

	hosszú stimulus	*rövid* stimulus	*hosszú-rövid* stimulus
cm gain	1.75	5.1	5.01
g_{pas} *gain*	7.02	2.62	7.21

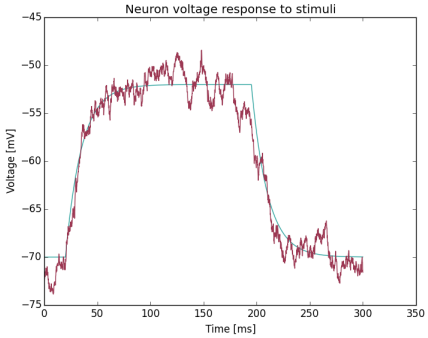
4.3.1. táblázat. Az eredmények táblázatba foglalva. Az egyes stimulusok esetén, a paraméterek becslésének pontosságát jellemző élesség (gain) értékeket láthatjuk.

Az eredmények alapján *cm* paraméterre nézve a (b) típusú protokoll hordozta a több információt, az (a)-hoz képest. Ez abból következik, hogy ez a paraméter a tranziens ágakért felelős, így a gyorsan változó, nagy emelkedésű szakaszokkal lehet jól beállítani.

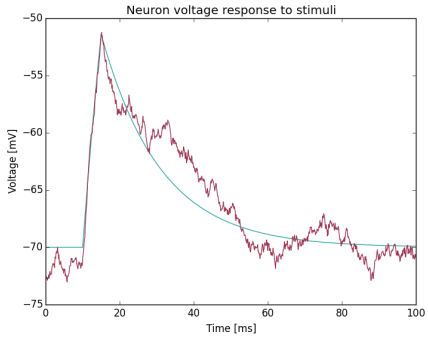
A g_{pas} paraméternél pedig épp ellenkezőleg, a különböző áraminjekcióhoz tartozó konstans szakaszok számítanak. Ezzel összhangban a módszerünk az (a) típusú protokollt találta jobbnak g_{pas} paraméter becsléséhez.

Előbbieket, vagyis az (a) és (b) típusú stimulusokat kombinálva egy olyan protokoll hozható létre (c), amely egyszerre mindkét paramétert jól meg tudja határozni.

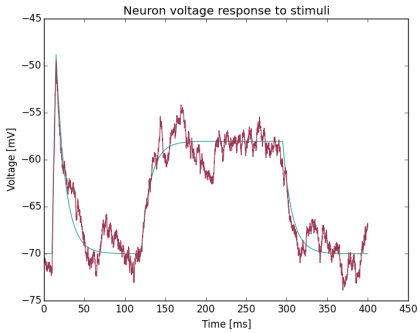
Megjegyzendő, hogy valószínűleg hasonló eredményt értünk volna el a (c) típusú protokolléhoz, ha a (b) típusú áramimpulzus amplitúdójának nagyságát használjuk az (a) típusú áramimpulzus időhosszával, hiszen ekkor ugyan azok a tranziens ágak jelentek volna meg és hasonlóan hosszú konstans szakasz. Viszont a sejtet tönkretehetjük, ha nagy áramerősséget injektálunk bele huzamosabb ideig, ezért célszerű szétbontani nagy amplitúdós rövid szakaszra és kis amplitúdós hosszú szakaszra, hogy mindkét paramétert pontosan tudjuk becsülni.



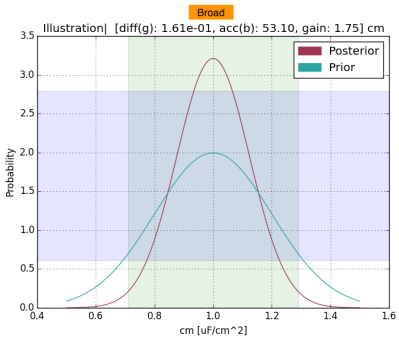
(a) hosszú áramimpulzusra



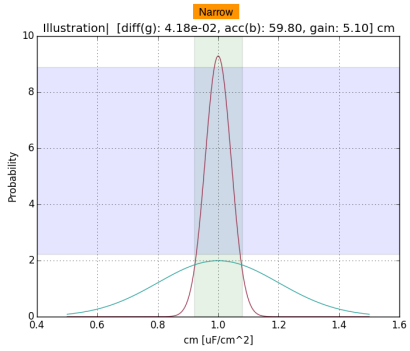
(b) rövid áramimpulzusra



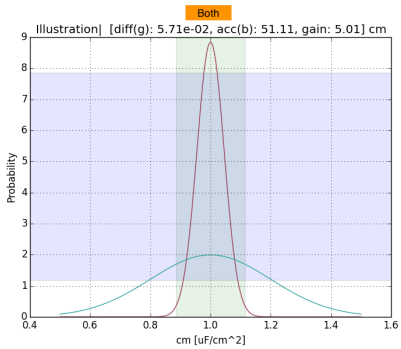
(c) hosszú-rövid áramimpulzusra



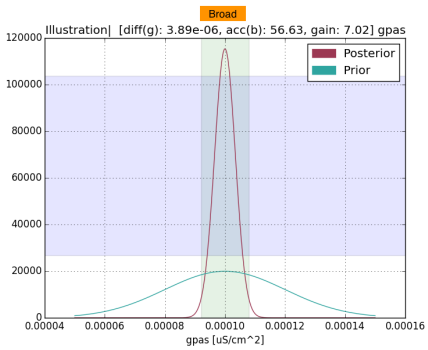
(d) *cm* hosszú impulzusra



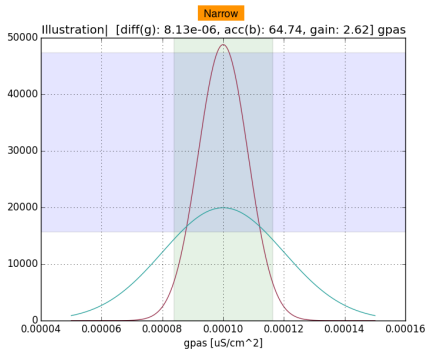
(e) *cm* rövid impulzusra



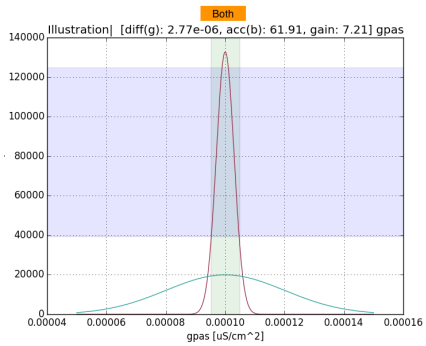
(f) *cm* hosszú-rövid impulzusra



(g) g_{pas} hosszú impulzusra



(h) g_{pas} rövid impulzusra

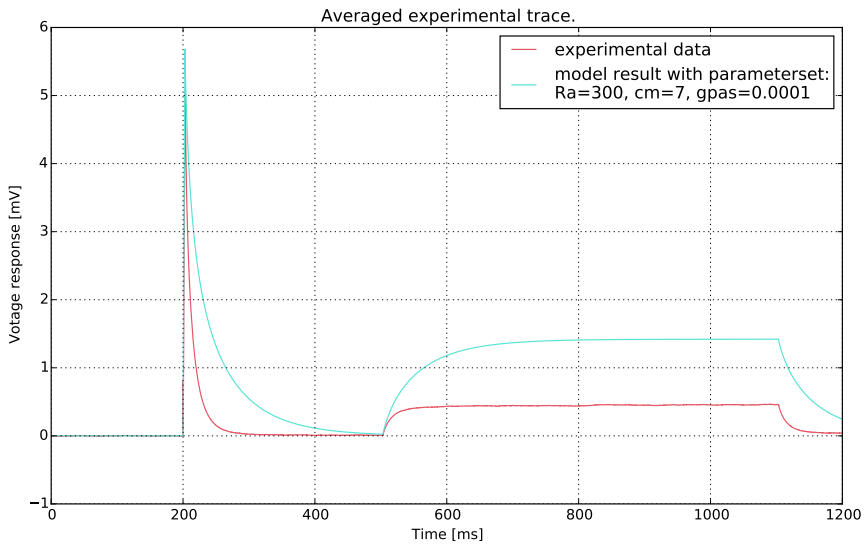


(i) g_{pas} hosszú-rövid impulzusra

4.3.1. ábra. Egykompartmentumos modell különböző áramimpulzusra adott feszültségválaszai láthatóak kékkel, valamint az erre rakott színes zajból előálló szintetikus adatok pirossal az első sorban. Ezek információtartalmát láthatjuk az egyes paraméterekre vonatkozóan a következő sorokban. A második sorban a *cm* paraméter, a harmadik sorban pedig g_{pas} paraméter eredményei láthatóak.

4.4. Inferencia valódi adatsoron

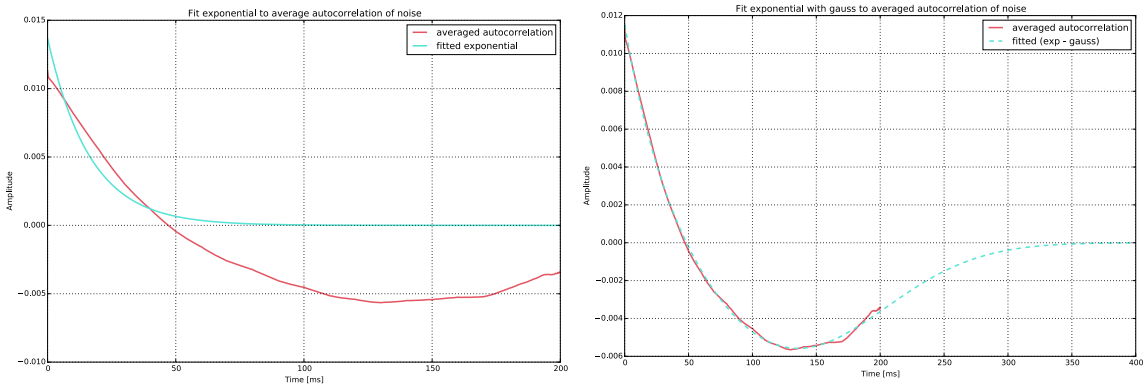
Valós (passzív) idegsejt (hosszú és rövid) áramimpulzus bemenetre adott feszültségválaszát mérte az MTA Kísérleti Orvostudományi Kutatóintézetben Nusser Zoltán csapata. Ugyan azokat az elektrofiziológiai méréseket elvégezték sokszor (több mint 500db adatsor született) és a kapott eredményeket átlagolták. Ezután a sejtről egy részletes három dimenziós rekonstrukciót készítettek, mely a korábbi 2.5.1-ábrán tekinthető meg. Ezt az idegsejt morfológiát betöltve a *Neuron* programba és elkészítve hozzá a protokollt (sejtbe injektált áramok a megfelelő időpontokban, morfológia és biofizika), megalkottuk a szimulációs modellünk. Itt is a sejttesten történt az ingerlés, valamint azon is mérték a feszültségválaszt. Továbbá csatornablokkolókkal segítségével elérték, hogy a sejt passzív viselkedést mutasson. Így passzív biofizikai beállításokkal használhattuk a számítógépes modellünk. A mérésből származó átlagolt sejtválasz, valamint az idegsejtről készített modellünk szimulációs válasza – kedvezőtlen paraméterbeállítások mellett – látható a 4.4.1-ábrán.



4.4.1. ábra. Egy valódi passzív idegsejt áramimpulzusokra adott, átlagolt feszültségválasza látható pirossal. A valódi idegsejtről készített szimulációs modell – rosszul teljesítő paraméterbeállításokkal – determinisztikus eredménye látható kékkel.

Már csak a kísérleti zaj modellje szükséges az inferencia elvégzéséhez. Ehhez az egyes (baseline) adatsorok autokorrelációs eredményeit átlagoltuk, amely megtekinthető a korábbi 3.2.2-ábrán. Erről egyértelműen látszódik, hogy a kísérleti zaj nem modellezhető független fehér zajként, időbeli korreláció figyelhető meg az adatpontok között. Azt vizsgáltuk, hogy az exponenciális lecsengésű autokorrelációval rendelkező színes zajmodellel leírható-e a kísérleti zaj. Ezt úgy tettük, hogy a kiátlagolt autokorrelációs adatokra exponenciális függvényt illesztettünk. Eredményül azt kaptuk, hogy ez a függvény nem illeszkedik jól az adatpontokra. Másrészt az

adatsor túl rövid és nem látjuk az aszimptotikus viselkedést[7] ahhoz, hogy új zajmodellt tudjunk felállítani. Az exponenciális illesztése és egy hipotetikus aszimptotikus viselkedés tekinthető meg 4.4.2-ábrán.



(a) *exp* fit

(b) $exp - gauss$ fit

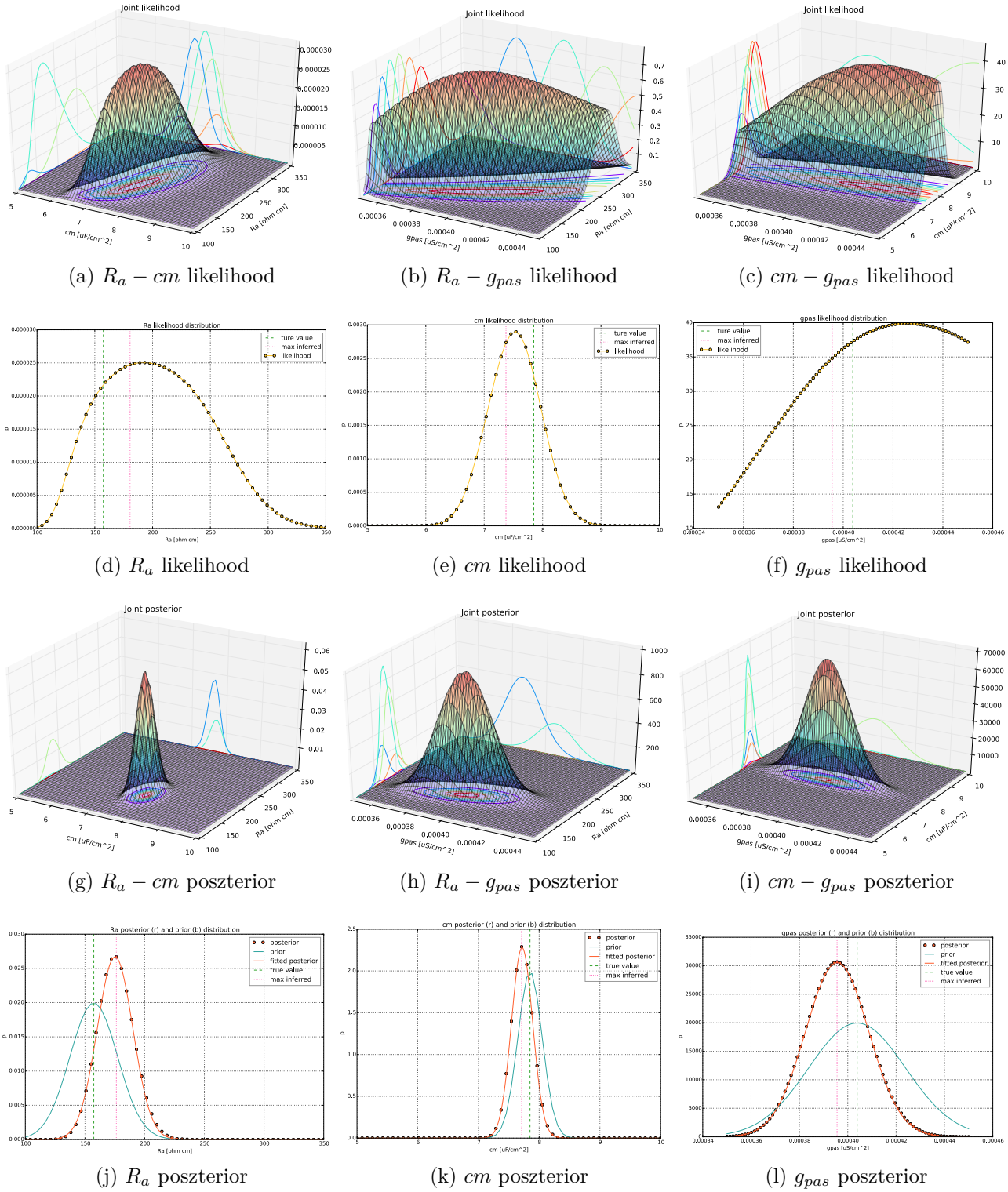
4.4.2. ábra. **(a)**: Kiátlagolt autokorrelációs adatokra exponenciális illesztése. Az illeszkedés rossz, az adatok a negatívba is lemennek. **(b):** Másrészt az adatsor túl rövid, az aszimptotikus viselkedés nem látható. Itt is egy exponenciálist illesztettünk kiegészítve egy Gauss-görbével: minimum $400 - 500[ms]$-os basile kellene az aszimptotikus viselkedéshez. Az is elképzelhető feltevés, hogy a függvény oszcillálva tart nullába...

Ebből fakadóan fehér zajt feltételezve alkalmaztuk a paraméterbecslést az átlagolt adatsorra. Az átlagolás következtében viszont erősen lecsökkent a zaj szórása[8], így mi egy kis – az eddigi vizsgálatainknál használttal összemérhető – amplitúdójú fehér zajt alkalmaztunk. Ezekből kifolyólag az eredményünk azt fogja jellemezni, hogy ez a komplex térbeli kiterjedésű idegsejtmodell mennyire érzékeny a paraméterekre. Az inferenciát egyszerre mind a három passzív paraméteren (R_a, cm, g_{pas}) végeztük. Az *Optimizer*[8] paraméteroptimalizációs szoftverrel előre megkerestük a legjobban illeszkedő paraméterkombinációt, majd az ezt körülölelő paramétertér egy felosztását kiértékeltük, elvégeztük az inferenciát. Az egyes eredmények a 4.4.3-ábrán láthatók, valamint ezek összefoglalása a 4.4.4-ábrán. Az ábrákról szépen látszódik, hogy a paraméterek együttesen határozzák meg a modell jó illeszkedését. Ez különösen a g_{pas} paraméterrel való együttes eloszlásoknál látszódik, ugyanis ha rögzítem az egyik paramétert egy nagyobb valószínűségű helyen, ahhoz tartozik a másik paraméter egy olyan beállítása, mellyel a modell jól teljesít és ezek a nagy valószínűségű helyek egy éles vonalon helyezkednek el.

[7]Feltesszük, hogy az autokorreláció időben nullához tart, azaz egy idő után nem korrelálnak a pontok.

[8]Nem csak a fehér zaj, de bármilyen korreláló zaj is kiátlagolódik, mivel maguk az adatsorok függetlenek.

Összességében megállapíthatjuk, hogy valós elektrofiziológiai adatokra és idegsejtmodellekre is szépen működik a módszerünk. Viszont a megjelenő kísérleti zaj még kérdéses, hosszabb adatsorra van szükség és további elemezést kíván.



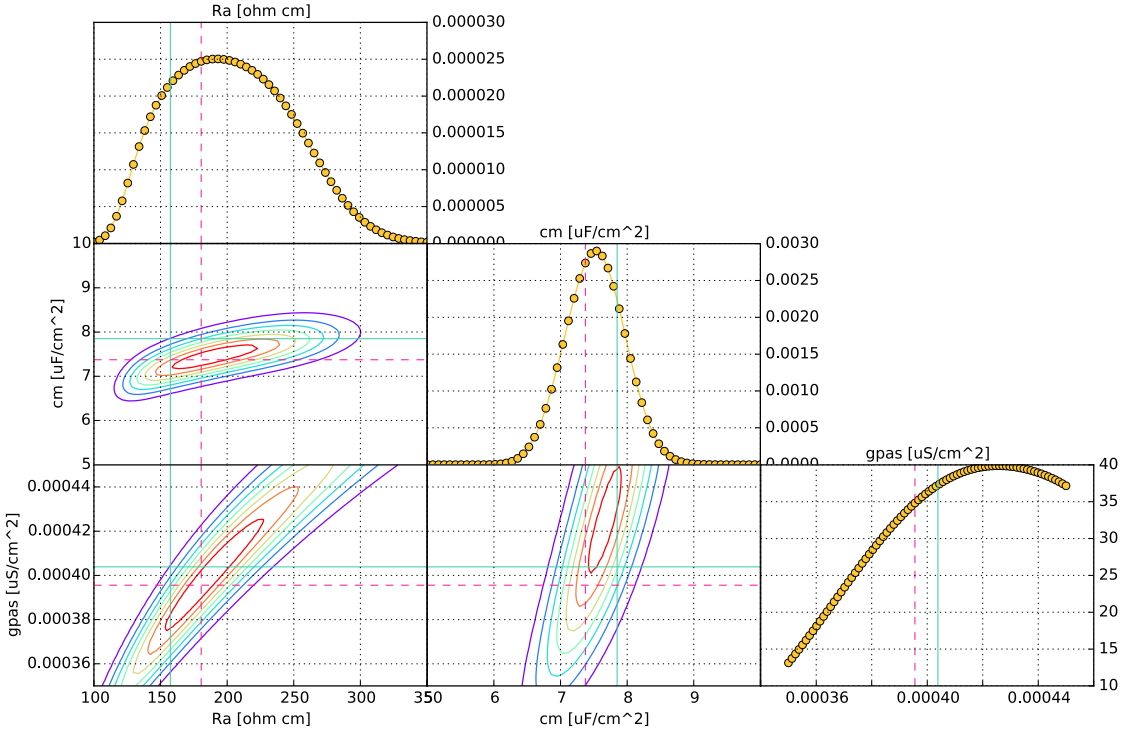
(a) $R_a - cm$ likelihood (b) $R_a - g_{pas}$ likelihood (c) $cm - g_{pas}$ likelihood

(d) R_a likelihood (e) cm likelihood (f) g_{pas} likelihood

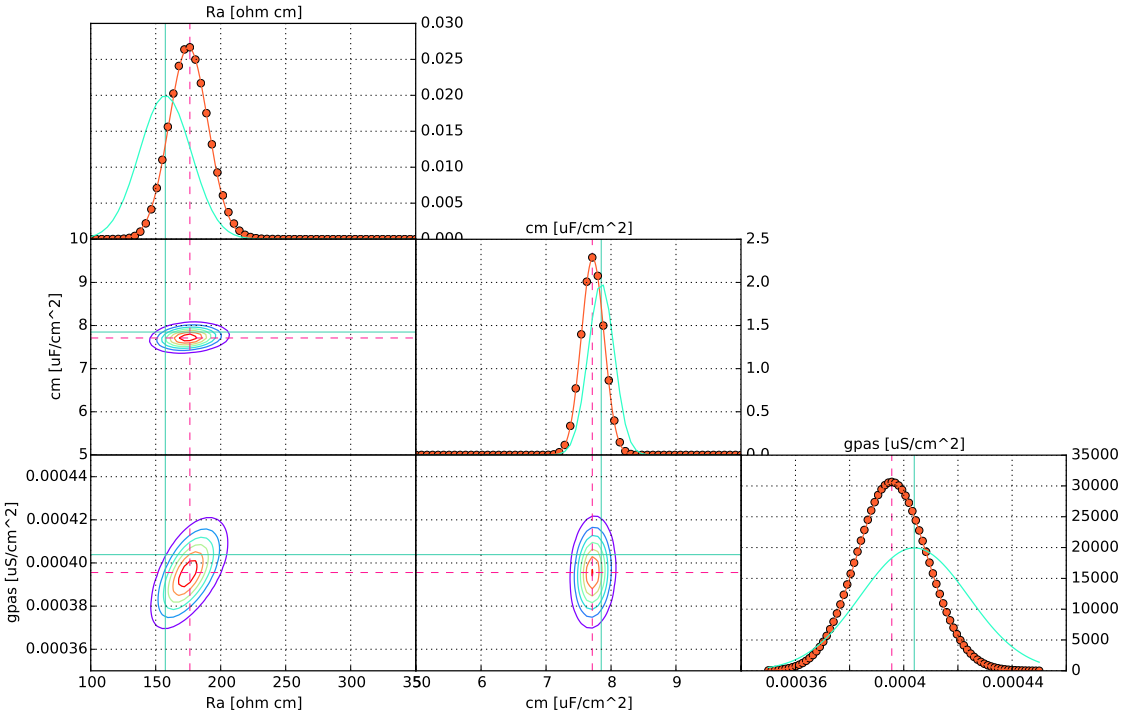
(g) $R_a - cm$ poszterior (h) $R_a - g_{pas}$ poszterior (i) $cm - g_{pas}$ poszterior

(j) R_a poszterior (k) cm poszterior (l) g_{pas} poszterior

4.4.3. ábra. A valós kísérleti adatsoron végzett inferencia eredményei láthatók.



(a) Likelihood eredmények



(b) Poszterior eloszlás

4.4.4. ábra. Az összefoglaló ábra látható a paraméterbecslés eredményéről, valós passzív idegsejtre.

5. Következtetések

A célunk egy olyan módszer megalkotása volt, amely az adott beállítású elektrofiziológiai kísérletek eredményeinek megbízhatóságát, pontosságát képes jellemezni. Ennek megvalósítása érdekében a Bayesiánus-valószínűség alapköveit használtuk fel. Így elértük, hogy a bemenetként szolgáltatott kísérleti adatok, idegsejtmodell és becsülendő paraméterei, valamint zajmodell mellett képesek vagyunk a keresett paraméterek tartományához egy poszterior eloszlást társítani. Ez az eloszlás pedig jellemzi az adott kísérleti protokollból kinyerhető információtartalmat (a keresett paraméterekre nézve). Ebben a dolgozatban azt vizsgáltuk, hogy tényleg jól működik-e ez a megközelítés és alkalmazható-e kísérleti protokollok előzetes jellemzésére.

Láttuk, hogy több paramétert együtt mérve, valamint a realisztikusabb színes zajjal romlik a becslés pontossága. Továbbá megmutattuk, hogy a módszerünk alkalmas a paraméterek közti bonyolult kapcsolatok feltérképezésére. Azt is megfigyeltük, hogy a kiterjedt modell dendritre jellemző passzív paraméterét, az axiális ellenállást (Ra) kevésbé pontosan becsültük tisztán a sejttesten végzett mérések alapján. Ez is egy bizonyíték arra, hogy a módszerünk tényleg alkalmas a kísérleti protokoll információtartalmának jellemzésére. Ezek után épp erre tértünk rá, vagyis a különböző stimulusból álló protokollok információtartalmát határoztuk meg az egyes paraméterekre nézve. Az eredmények teljesen egybevágtak az intuíciónkkal, ismét alátámasztva a módszert. Végül valós kísérletekből nyert adatok és bonyolult morfológia esetére is végeztünk inferenciát, fehér zajmodellel közelítve a kísérleti zajt. Ezen kívül vizsgáltuk a kísérlet során előforduló zajt is, de a rendelkezésre álló adatok nem voltak elegendőek, hogy zajmodellt hozzunk létre.

Technikai oldalról jelenleg egy *"brute force"* megvalósítás zajlik[9], azaz a paraméterek tartományain – lineárisan, vagy a priorból mintavételezve – numerikus integrálás folyik. Ez kevés paraméter esetén jól működik, viszont ha nagyszámú változóra szeretném alkalmazni, exponenciálisan lelassul. Három paraméter esetén nagyobb felbontás mellett 14 órába telt az utolsó ábrákat (4.4.3) legenerálni, egy korszerű négymagos processzorral ellátott gépen futtatva a programot. Ezért érdemes lenne továbbfejleszteni ezt, a paraméterteret *"intelligensebben"* bejáró módszerekkel. Ilyen például a *Markov chain Monte Carlo (MCMC)* módszer, amely elterjedt közelítő módszer nagy dimenziószámú szimulációk esetén. Egy másik közelítő módszer a *Laplace módszer*[2], amely folytonos normál eloszlással közelíti az eredményeket második deriváltakat használva. Ehhez elegendő néhány – megfelelően megválasztott – mintavételi pont a paramétertérből. Ezt is érdemes lenne beépíteni a jövőben.

Végső cél realisztikus zajmodellek segítségével szintetikus adatokat előállítva megbecsülni, hogy adott kísérleti protokollból mennyi információ nyerhető ki, így segítve a kísérletezők munkáját. Ennek érdekében különböző alakú stimulusokat kezdtünk tesztelni. Többek között különböző frekvenciájú szinuszos árambemene-

[9] A program forrása itt fellelhető: https://github.com/terbed/parameter-inference.

teket. Azt is elkezdtük vizsgálni, hogy érdemesebb-e több különböző szinusz komponenst mérni és azokat kombinálni, vagy jobb-e, ha egy fajtából mérünk sokat. Az a cél, hogy a kísérletezőknek ajánlani tudjunk mérési terveket, azaz hogy a rendelkezésükre álló idő alatt milyen típusú protokollokból mennyit mérjenek annak érdekében, hogy a maximális információtartalmat kihozhassák a mérésből.

Végül fontos megemlíteni, hogy a módszer teljesen általános (protokoll tervezés). Mi elektrofiziológiai kísérletekre és passzív idegsejtekre alkalmaztuk, de akár általánosítható aktív idegsejtekre, illetve teljesen más jellegű mérésekre is. Az inferencia módszere még általánosabb: hogy jellemezni tudjuk a paraméterbecslés pontosságát ugyanis csak mérési adatok és az illesztendő modell kell, a mérés során előforduló zaj ismeretével karöltve. Ebben az esetben a dolgozatban ismertetett módszer segítségével sokkal mélyrehatóbban lehet jellemezni a becslés pontosságát, mint a paraméteroptimalizációs algoritmusok által szolgáltatott illesztési hibával.

Köszönetnyilvánítás

Először is szeretném megköszönni a témavezetőmnek, Káli Szabolcsnak a rengeteg segítségét, útmutatását és türelmes hozzáállását, ami nélkül ez a dolgozat nem jöhetett volna létre. Nagyon kellemes tapasztalat volt a vele történő munka és a vele töltött idő.

Szeretném megköszönni továbbá édesanyám és keresztapám anyagi támogatását, fáradozását annak érdekében, hogy megteremtsék a megfelelő hátteret a tanulmányaim elvégzéséhez.

Valamint köszönöm barátaimnak az ösztönzésüket, különösön Demeter Márton Csabának, volt kollégiumi szobatársamnak, akitől sokat tanulhattam. Végezetül köszönöm barátnőmnek, Kósa Rékának, hogy végig mellettem állt.

Hivatkozások

[1] Oren Amsalem, Werner Van Geit, Eilif Muller, Henry Markram, and Idan Segev. From neuron biophysics to orientation selectivity in electrically coupled networks of neocortical l2/3 large basket cells. *Cerebral Cortex*, page bhw166, 2016.

[2] Adriano Azevedo-Filho and Ross D Shachter. Laplace's method approximations for probabilistic inferencein belief networks with continuous variables. In *Proceedings of the Tenth international conference on Uncertainty in artificial intelligence*, pages 28–36. Morgan Kaufmann Publishers Inc., 1994.

[3] Rui P Costa, P Jesper Sjöström, and Mark CW Van Rossum. Probabilistic inference of short-term synaptic plasticity in neocortical microcircuits. 2013.

[4] Peter Dayan and Laurence F Abbott. *Theoretical neuroscience*, volume 10. Cambridge, MA: MIT Press, 2001.

[5] Shaul Druckmann, Yoav Banitt, Albert A Gidon, Felix Schürmann, Henry Markram, and Idan Segev. A novel multiple objective optimization framework for constraining conductance-based neuron models by experimental data. *Frontiers in neuroscience*, 1:1, 2007.

[6] Hubert Eichner and Alexander Borst. Hands-on parameter search for neural simulations by a midi-controller. *PloS one*, 6(10):e27013, 2011.

[7] Ronald F. Fox, Ian R. Gatland, Rajarshi Roy, and Gautam Vemuri. Fast, accurate algorithm for numerical simulation of exponentially correlated colored noise. *Phys. Rev. A*, 38:5938–5940, Dec 1988.

[8] Péter Friedrich, Michael Vella, Attila I Gulyás, Tamás F Freund, and Szabolcs Káli. A flexible, interactive software tool for fitting the parameters of neuronal models. *Frontiers in neuroinformatics*, 8:63, 2014.

[9] Miklos Szoboszlay, Andrea Lőrincz, Frederic Lanore, Koen Vervaeke, R Angus Silver, and Zoltan Nusser. Functional properties of dendritic gap junctions in cerebellar golgi cells. *Neuron*, 90(5):1043–1056, 2016.

[10] Werner Van Geit, Pablo Achard, and Erik De Schutter. Neurofitter: a parameter tuning package for a wide range of electrophysiological neuron models. *BMC Neuroscience*, 8(2):1, 2007.

[11] Werner Van Geit, Erik De Schutter, and Pablo Achard. Automated neuron model optimization techniques: a review. *Biological cybernetics*, 99(4-5):241–251, 2008.